Vol. XXIII. Nr 1 1954

Acta Societatis Botanicorum Poloniae

Organ Polskiego Towarzystwa Botanicznego
Publication de la Société Botanique de Pologne

Komitet Redakcyjny — Comité de Rédaction:
B. Hrynieniecki (Warszawa), *St. Kulczyński* (Wrocław)
B. Niklewski (Poznań), *Fr. X. Skupieński* (Łódź),
W. Szafer (Kraków), *P. Wiśniewski* (Lublin), *J. Zabłocki* (Toruń).

Redaktorzy — Rédacteurs:
K. Bassalik (Warszawa), *W. Gajewski* (Warszawa).



WARSZAWA


COMMONWEALTH MY
5

TREŚĆ — SOMMAIRE:

Vol. XXIII. Nr 4.

ACTA SOCIETATIS BOTANICORUM POLONIAE
Vol. XXIII. Nr 1. 1954

Działanie niektórych fitoncydów na protoplazmę

Influence de phytoncides sur le protoplasme

BOHDAN RODKIEWICZ

Zakład Anatomii i Cytologii Roślin i Zakład Fizjologii Roślin i Mikrobiologii
U. Ł. Łódź.

(Wpłynęło dn. 15.VII.1953)

Lotne substancje wydobywające się z roztartych tkanek, oraz „sok" szeregu roślin wywołuje w żywej protoplazmie głębokie zmiany. Przy odpwiednio długim działaniu następuje śmierć organizmu. T o k i n (1951), D u b r o w a (1950), W a l k e r (1923), K o w a l e n o k (1943), K e c k, H o f f m a n n - O s t e n h o f i i. (1951 a, b), G u- z o w s k a, O r z e c h o w s k a i K u n i c k i - G o l d f i n g e r (1952) opisują zaburzenia, jakim ulegają struktury wielu organizmów należących do pierwotniaków, grzybów i roślin wyższych. Zdezorganizowana zostaje treść komórki, a część zawartości w niektórych wypadkach wylewa się na zewnątrz, tworząc charakterystyczne pęcherzyki. V i n o- k u r o v (1947) i S z y m o n a (1952) przypuszczają, że działanie fitoncydów czosnku polega na zablokowaniu czynności niektórych enzymów oddechowych. Moje obserwacje dotyczą zmian wywoływanych w protoplazmie śluzowców i w korzonkach cebuli przez lotne oraz płynne substancje otrzymywane z cebuli i czosnku.

Za cenne wskazówki i pomocną krytykę uprzejmie dziękuję prof. dr A. Wałek-Czerneckiej, prof. dr F. Skupieńskiemu i prof. dr W. Moycho.

METODY I MATERIAŁ

W celu uzyskania materiału do doświadczeń hodowałem śluzowiec *Didymium nigripes* na pożywce agarowej z brzeczką. Dla otrzymania plazmodiów bez owocowania używałem brzeczki 5^0 Bx. Na takiej pożywce rozwija się duże plazmodium, później tworzą się skleroty, natomiast owocniki powstają tylko wyjątkowo. (Potwierdza to obserwacje A. S k u- p i e ń s k i e j 1953). Następnie skleroty lub plazmodia przenosiłem na czysty agar, w celu pozbycia się przynajmniej części towarzyszących im

mikroorganizmów. Części rozwiniętego na czystym agarze plazmodium kładłem do kropli wody na szkiełku przykrywkowym. Tutaj śluzowiec rozprzestrzeniał się cienką warstwą i mógł być obserwowany pod silnym powiększeniem zarówno przyżyciowo jak i po utrwaleniu i zabarwieniu. Do doświadczeń brałem 1—3 centymetrowe korzonki cebuli korzeniącej się w wodzie. Plazmodia i korzonki poddawałem działniu lotnych i płynnych fitoncydów otrzymanych przez roztarcie tkanek cebuli lub czosnku. Materiał utrwalałem metodą Fleming-Beneda, Navaszina i Regaud. Barwiłem hematoksyliną żelazistą i zielenią jasną, przeprowadzałem reakcję Feulgena oraz barwienie tłuszczów siarczanem błękitu nilowego, Sudanem czarnym i plazmalną reakcję Feulgena. Przed barwieniem tłuszczów utrwalałem plazmodia w obojętnej formalinie, a przed reakcją plazmalną w sublimacie. Korzonki krajałem mikrotomem na skrawki o grubości 8 mikronów, często po reakcji Feulgena robiłem preparaty gniecione.

DOŚWIADCZENIA ZE ŚLUZOWCEM

W poprzedniej notatce (R o d k i e w i c z 1953) stwierdziłem, że w różnych fazach rozwoju śluzowiec *Didymium nigripes* nie jest jednakowo wrażliwy na fitoncydy cebuli. Najbardziej czułe okazały się pływki, ameby i plazmodia, które reagowały na bardzo drobne ilości fitoncydów wydzielanych przez nieuszkodzony korzonek cebuli. Teraz znów obserwowałem, że aktywne stadia rozwojowe śluzowca podlegają łatwo działaniu fitoncydów, przy czym pod wpływem małych dawek następuje zacystowanie się organizmu, przy większych natychmiastowa śmierć. Dla wywołania zacystowania się śluzowca wystarczą ślady soku cebuli bądź czosnku. Kropla soku którejś z tych roślin wprowadzona do kamery wilgotnej wydziela lotne fitoncydy. Działają one na plazmodium przyklejone do szkiełka przykrywkowego, które stanowi górną ściankę komory. Pod ich wpływem plazmodium rozpoczyna się energicznie kurczyć, następnie ustaje zarówno ten ruch jak i ruchy wewnątrz protoplazmy. Na znieruchomiałym plazmodium ukazują się pęcherzyki. Niektóre z nich powstają jednak przed ustaniem ruchu. Jeżeli uchwycić odpowiedni moment i usunąć źródło fitoncydów, to zmiany wywołane przez fitoncydy zanikają. Przy użyciu paru kropel soku plazmodium zostaje zabite, prądy cytoplazmy są zahamowane niemal natychmiast, po czym ukazują się, tak jak poprzednio, pęcherzyki (rys. 1). Pojawienie się ich jest dość gwałtowne. Część protoplazmy nagle uwypukla się tworząc wzniesienia na powierzchni plazmodium. Przypomina to powstawanie normalnych wypustek przy ruchu plazmodium. Odbywa się jednak znacznie szybciej i nie wiąże się z określonym kierunkiem. Później pęcherzyk może się jeszcze powiększyć i często odrywa się całkowicie od plazmodium, przyjmując kulisty kształt. Z początku zawartość pęcherzyka jest zupełnie homogen-

na, barwi się hematoksyliną lub zielenią jasną tak jak cytoplazma plazmodium. Później dostrzega się w nim niektóre morfotyczne składniki protoplazmy.

Protoplazma śluzowca jest bardzo bogata w różnego rodzaju ziarnistości m. in. można tam wyróżnić zależnie od barwienia rozmaite rodzaje utworów tłuszczowych. W celu uwidocznienia ich przeprowadzałem plazmalną reakcję Feulgena, która wg Verne (1929) i Marchlewskiego (1947) jest specyficzną dla związków typu aldehydotłuszczów. Ilość tych substancji jest w plazmodium bardzo znaczna. Po wyjęciu preparatu z odczynnika Schiffa makroskopowo widać silne fioletowe zabarwienie. W cytoplazmie oglądanej przez mikroskop znajdują się grudki aldehydotłuszczów; często nieregularne, różnej wielkości od drobnych do dużych o średnicy kilku mikronów. Niektóre ściśle przylegają do jąder. Wg Langerona (1949) siarczanem błękitu Nilu barwią się na błękitno kwasy tłuszczowe, specyficzność tego odczynnika jest jednak dyskutowana. W plazmodium potraktowanym błękitem uwidoczniają się duże kuliste lub owalne krople o średnicy dochodzącej do kilkunastu mikronów, prócz tego występują nieliczne małe kropelki. Wreszcie po barwieniu Sudanem czarnym występują tłuszcze w postaci ogromnej ilości drobnych kropelek, przeważnie mniejszych od mikrona. Dziwnym się wydaje, że Andresen i Pollock (1952) nie wykryli żadnych tłuszczów w plazmodiach *Physarum polycephalum*. Pęcherzyki powstałe na plazmodium pod wpływem fitoncydów posiadają inny skład, odnośnie tłuszczów niż cytoplazma. Nie występują w nich aldehydotłuszcze reagujące z odczynnikiem Schiffa. W rezultacie pęcherzyk pozostaje berbarwny i odcina się wyraźnie od fioletowej masy reszty protoplazmy. Tłuszcze barwiące się Sudanem czarnym spotyka się w większych pęcherzykach w postaci drobnych kropelek, natomiast w mniejszych zupełnie ich brak. Świadczy to o tym, że wchodzą one w skład pęcherzyka nie od razu przy jego tworzeniu się, a raczej później. Przy barwieniu siarczanem błękitu Nilu pęcherzyki przybierają kolor lekko niebieski podobnie jak cytoplazma. Nie ma tam jednak żadnych utworów silnie zabarwionych, podobnych do dużych kropli tłuszczowych plazmodium.

Cytoplazma śluzowców zawiera dużą ilość jąder, widoczne to jest już na pierwszy rzut oka. Większość pęcherzyków natomiast pozbawiona jest ich całkowicie. W niektórych jądra występują, ale w stosunkowo znacznie mniejszej liczbie niż w plazmodium. Żadnych wyraźnych zmian morfologicznych w jądrach plazmodiów poddawanych działaniu fitoncydów nie zauważyłem.

Z powyższego można wnioskować, że fitoncydy wywołują zmiany głównie w homogennej części protoplazmy śluzowca. Część jej zostaje utrwalona tworząc martwy szkielet, z którym wiążą się niektóre skład-

niki morfotyczne. Reszta pozostaje w stanie bardziej płynnym, wycieka poza plazmodium porywając niektóre elementy strukturalne.

W celu porównania działania fitoncydów na protoplazmę śluzowca, z działaniem na protoplazmę innych organizmów, przeprowadziłem doświadczenia z korzonkami cebuli.



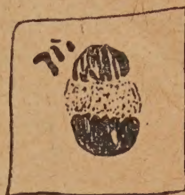
Ryc. 1. Plazmodium zabite przez lotne substancje cebuli. Na powierzchni utworzyły się pęcherzyki.
Le plasmode tué par les substances volatiles toxiques de l'oignon. A la surface du plasmode se sont formé des vésicules.

DOŚWIADCZENIA Z KORZONKAMI CEBULI

Cebule z korzonkami długości 2—3 cm umieszczałem w szczelnie zamykanych litrowych naczyniach. Na dnie naczynia znajdowało się 100 g roztartej cebuli. Ani cebule ani korzonki nie stykały się z roztartymi tkankami, działały na nie tylko lotne fitoncydy. Po 6—8 godz. część korzonków odcinałem, a następnie utrwalałem i barwiłem, nieodcięte zanurzałem do wody. Korzonki pozostawały żywe i zdolne do dalszego rozwoju, na niektórych pojawiały się tylko nieznaczne nabrzmienia powyżej stożka wzrostu. Czasami w preparatach obserwowałem nienormalności w mitozie, podobne do opisanych przez wspomnianego już Kecka, a otrzymanych przez działanie wyciągiem z cebuli. Bliżej tym się jednak nie zajmowałem. W rzadkich wypadkach spotykałem większe zaburzenia w strukturze jąder. Na jądrach znajdujących się w tkankach leżących powyżej merystemu wierzchołkowego pojawiały się wypustki. Na preparatach można było znaleźć jądra z wypustkami różnej długości, przy czym im dłuższa była wypustka tym mniejszą pozostawała główna masa jądra. Część z nich przybrało całkowicie postać długich nici, które barwiły się jednolicie hematoksyliną nie wykazując struktur charakterystycznych dla utrwalonego jądra.

Działanie lotnych substancji czosnku było znacznie sliniejsze i niezawode. Do naczynia kładłem 20 g roztartego czosnku i na 6 godz. umieszczałem w nim ukorzenione cebule. Po przeniesieniu korzonków do wody można było stwierdzić zahamowanie wzrostu. W przeciągu doby powyżej stożka wzrostu pojawiły się znaczne nabrzmienia. Korzonek pozostawał jednak żywy i po kilku dniach wytworzył szereg korzeni bocznych.

Główny stożek wzrostu nie odnowił swej działalności i zdegenerował się. Kontrolne korzonki nie wykazały żadnych zmian.



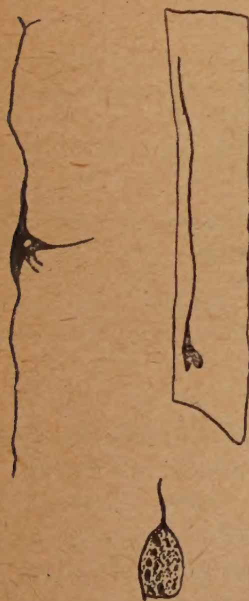
Ryc. 2.

Ryc. 2. Pod wpływem lotnych substancji czosnku na korzonki cebuli, część chromatyny znalazła się poza jądrem telofazowym.

Sous l'influence de substance volatiles de l'ail sur les radicelles de l'oignon, une partie de chromatine s'est trouvée en dehors du noyau télophasique.

Na przekrojach widoczne były zakłócenia w kariokinezach oraz zmiany w morfologii jąder strefy różnicowania się. Najczęściej obserwowałem opóźnianie się chromozomów w anafazie, oraz pozostawanie części substancji jądrowej poza jądrem telofazowym (rys. 2). W korzonkach, które przeniosłem na dobę do wody, nie widziałem żadnych nowych kariokinez. Brakło tam również zahamowanych kariokinez, co pozwala sądzić, że pomimo zakłóceń powstałych w czasie działania fitoncydów kariokinezy dobiegły końca. Zmieniały się niektóre jądra leżące w strefie wydłużania się i różnicowania w odległości około 6 mm od stożka wzrostu. Pod wpływem fitoncydów z jąder wydobywają się cienkie nici zawierające kwas desoksyribonukleinowy. Nici te znacznie się wydłużały, a czasami rozgałęziały się (rys. 3). Barwiły się one przy reakcji Feulgena jednolicie na całej swej długości, w resztce jądra bezbarwne pozostawało jedynie jąderko.

Korzonki cebuli, zanurzone przez 4 do 12 godz. w rozcieńczonym do połowy wodą soku czosnku, obumierały. Korzonki traciły turgor, a po przeniesieniu do wody nie rosły, zaś po paru dniach rozpadały się przy lekkim nacisku. W utrwalonych i barwionych komórkach znalazłem szereg zmian. Korzonki traktowane 4—6 godz. posiadły silnie zdeformowane kariokinezy. Z jąder profazowych wydostawały się nici chromatynowe. W anafazie występowały spóźnione chromozomy, oraz mostki



Ryc. 3.

Ryc. 3. Jądra z nitkowatymi wypustkami powstałymi przy działaniu lotnymi fitoncydami czosnku na korzonek cebuli.

Les noyaux avec des proéminences filliformes, causées par les substances volatiles de l'ail dans les radicelles de l'oignon.

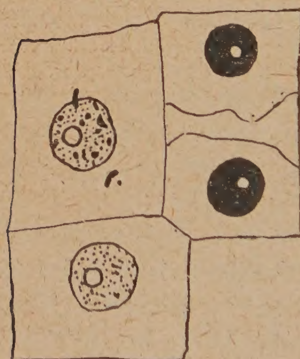
chromatynowe łączące tworzące się potomne jądra (rys. 4). Niekiedy w cytoplazmie leżały odrzucone chromozomy. Jądra telofazowe z utworzonym jąderkiem lub bez jąderka barwiły się zupełnie homogennie. Często nie widać było tworzenia się przegrody pierwotnej, ani strukturalnego wrzeciona cytokinetycznego, chociaż teren pomiędzy jądrami bar-



Ryc. 4. Zakłócenia w kariokinezie przy działaniu sokiem czosnku. a) substancja chromatynowa poza jądrem profazowym b) mostek chromatynowy i odrzucony chromozom w anafazie.

Troubles dans la caryocinèse sous l'influence du suc d'ail. a) substance chromatique en dehors du noyau prophasique. b) trabécule chromatique et le chromosome écarté dans l'anaphase.

wił się intensywnie zielenią świetlistą. W wypadku gdy prawdopodobnie płynną przegroda była utworzona, protoplasty odrywały się od siebie wzdłuż jej linii (rys. 5). Jądra interfazalne wykazywały ziarnistą strukturę. Obok nich w cytoplazmie leżały drobne ziarenka barwiące się metodą Feulgena.



Ryc. 5. Przy działaniu sokiem czosnku nastąpiło oddzielenie się komórek wzdłuż przegrody pierwotnej. Jądra telofazowe jednolicie zabarwione, interfazowe wykazują ziarnistości, których część przedostała się do cytoplazmy. Barwione metodą Feulgena.

Séparation de cellules le long de la paroi primordiale sous l'influence du suc d'ail. Noyaux télophasiques sont uniformément colorés, noyaux interphasals présentent des granulations dont une partie a passé dans le cytoplasme. Coloration d'après la méthode Feulgen.

Przy długim do 12 godz. działaniu fitoncydów czosnku pogłębiały się zmiany w wewnętrznej strukturze komórek. Przede wszystkim zawartość komórki ulegała skurczeniu. W jądrach na całym przekroju korzenia nie widać było żadnych morfotycznych utworów z wyjątkiem jąderek. Zwykle w komórkach skórki i dwóch trzech warstw pod skórką następowała chromatoliza (termin Kecka i i.). Polega ona na tym, że z jąder wydobywa się substancja chromatynowa i zbiera się w cytoplazmie

w postaci kropelek lub nitek. W niektórych wypadkach większość kwasu desoksyribonukleinowego wydostawała się z jądra (rys. 6). Wtedy w jądrze pozostawało jąderko, nieliczne krople reagujące z odczynnikiem Schiffa i siateczka barwiąca się zielenią świetlistą. Ogólny kształt jądra nadal się zachowywał. Kariokinezy występowały rzadko i były zupełnie zniekształcone. Chromozomy zlewały się ze sobą dając niewyraźne, rozmazane obrazy.



Ryc. 6. Duża ilość kwasu DRN znajduje się w cytoplazmie. Korzonki traktowane sokiem czosnku, barwione metodą Feulgena.
Une grande quantité d'acide DRN se trouve dans le terrain du cytoplasme, après le traitement de radicelles avec le suc d'ail. Coloration d'après la méthode Feulgen.

DYSKUSJA

Związek pomiędzy jądrem a cytoplazmą był przedmiotem licznych badań. Wielu dawniejszych autorów widziało w jądrze element aktywnie działający w okresie interfazy — wydzielający do cytoplazmy rozmaite substancje, między innymi chromatynowe. Wydzielania chromatyny jednak nie potwierdziły późniejsze badania i pogląd ten został odrzucony. Obecnie rozmieszczenie i losy niektórych składników jądra ulegają ponownemu rozpatrzeniu. Specjalne zainteresowanie budzą kwasy nukleinowe. Ostatnio Chayen i Norris (1953) podali, że kwas DRN znajduje się w dużych ilościach w cytoplazmie i że kwas ten przemieszcza się w komórce zależnie od czynników zewnętrznych. Cooper (1951) stwierdził wywędrowanie kwasu DRN z jąder komórek warstwy wyściełającej do mikrosporocytów. Również badania zjawisk patologicznych rzucają pewne światło na procesy zachodzące w normalnym organizmie. Tego rodzaju badnia Yakara (1952), Kecka i i. (1951) ustaliły, że pod wpływem niektórych trucizn jak kolchicyna, czy kofeina, wyciągów z tkanek roślinnych z jąder wydostają się nici lub kropelki kwasu DRN. Moje obserwacje dowodzą również, że kwas DRN może masowo przechodzić z jądra do cytoplazmy pod wpływem czynników chemicznych. Względnie, jeżeli przyjmie się twierdzenie Chayen i Norrisa, to można uważać, że kwas DRN pod wpływem tych czynników pozostaje w cytoplazmie nie przechodząc podczas utrwalania i barwienia do jądra. W każdym razie kwas ten w wielu wypadkach może przemieszczać się w komórce roślinnej, co pozwala przypuszczać, że nie jest on nierozłącznie związany z jakimiś strukturami protoplazmatycznymi.

Porównując działanie fitoncydów na protoplazmę niższego organizmu *(Didymium nigripes)* i wyższego *(Allium cepa)* zauważyć można poważne różnice. U śluzowca reaguje przede wszystkim cytoplazma, natomiast jądra nie zmieniają się wyraźnie, u cebuli przede wszystkim uwidoczniają się zmiany w jądrach. Jądra komórek korzenia cebuli są niejednakowo wrażliwe na lotne fitoncydy. W strefie wydłużania się i różnicowania pod ich wpływem przyjmują jądra formy nitkowate, zaś w meristemie wierzchołkowym wyrzucają na zewnątrz drobne ziarenka chromatyny. Bezpośrednie zetknięcie się korzonków z sokiem czosnku wywołuje chromatolizę w komórkach powierzchniowych. Należy przypuszczać, że czynnik chromatolityczny słabo przenika przez błony komórkowe. Porównując zmiany spowodowane przez lotne i płynne fitoncydy stwierdza się, że zmiany te, przynajmniej częściowo, są specyficzne dla danego typu fitoncydów.

Można przypuścić, że działanie fitoncydów prowadzi do rozbicia protoplazmy na dwie części. Jedna zostaje ścięta, utrwalona, druga pozostaje homogenną lub nawet ulega homogenizacji, oddzielając się od pierwszej.

STRESZCZENIE

Pod wpływem fitoncydów czosnku i cebuli giną plazmodia śluzowca *Didymium nigripes*. Na powierzchni plazmodium powstają pęcherzyki, o składzie różnym od reszty protoplazmy. Często w pęcherzykach nie obserwuje się jąder oraz niektórych utworów tłuszczowych występujących w plazmodium. Fitoncydy cebuli nieznacznie zakłócają koriokinezy w korzonkach cebuli. Korzonki cebuli obumierają pod wpływem fitoncydów czosnku. Następują znaczne zaburzenia w kariokinezach, rozproszenie się kwasu DRN w całej protoplazmie i skurcz protoplastów. Należy przypuścić, że mechanizm działania fitoncydów polega na rozbiciu protoplazmy na dwie części z których jedna zostaje ścięta, a druga pozostaje homogenną i oddziela się od pierwszej.

RÉSUMÉ

Les substances volatiles ou nonvolatiles de plusieurs plantes, appelées phytoncides, manifestent une action toxique sur différents organismes. Le myxomycète *Didydium nigripes*, cultivé sur la gélose au moût de bière à 5^0B^x, fournit d'abondants plasmodes qui, très souvent, ne fructifient pas. De tels plasmodes montés en goutte pendante ont été soumis à l'action des phytoncides de l'ail et de l'oignon, volatils ou liquides. Leur action durant à peine quelques secondes provoquait la mort des plasmodes. Les mouvements du protoplasme cessaient tout d'abord et à la sur-

face des plasmodes se formaient de vésicules cytoplasmatiques. Ces derniers diffèrent au point de vue de la structure du restant de la masse protoplasmique. Certains contenaient quelques noyaux et certains d'autres n'en posédaient pas du tout. Dans chaque vésicule on a pu constater la présence des gouttes de substances graisseuses, mesurant environ 1 μ et qui se coloraient avec le bleu de Nil sulfurique et avec le Soudan noir. Par contre on n'a pas constaté de la présence de graisses aldehydé, donnant la reaction plasmale de Feulgen, ni de grosses gouttes prénnant la coloration avec le bleu de Nil sulf., et présents en grande quantité dans les plasmodes.

Les radicelles de l'oignon soumis à l'action des phytoncides volatils pendant 6—8 h. montraient parfois des enflures au dessus du sommet ainsi que des perturbations dans les mitoses.

Les substances volatiles de l'ail agissaient plus énergiquement. Exposition pendant 6—8 h. à l'action de ces phytoncides provoquait l'allongement filliforme des noyaux au dessus du méristème terminale. L'allongement de radicules fut arreté et à leurs bout apparaissaient des enflures. Les radicules de l'oignon trempés dans l'extrait de l'ail, coupé à moitié d'eau, furent intoxiqués et après 4—6 h. o na pu noter les changements dans la caryocinèse exprimés par la présence de chromosomes attardés, par l'existance de trabécules chromatiques et l'absence de fuseau achromatique. En faisant agir les phytoncides plus longtemps, 6—12 h., on a pu constater des filaments et des granules d'acide d. oxyribonucleique en dehors du noyau ainsi que la plasmolyse des cellules.

Les phytoncides agissent de façon différente sur le protoplasme des organismes étudiés. Mais en générale cette action conduit à la séparation du protoplasme en deux parties, dont une est coagulée, „fixée" et l'autre reste homogéne et se sépare de la première.

LITERATURA

Andresen N. Pollock B. M., 1952. A comparison between the cytoplasmic components in the myxomycete, *Physarum polycephalum*, and in the amoeba, *Chaos chaos*. C. R. d. Trav. du Labor. Carlsberg sér. chimique v. 28 247—264.

Chayen J. Norris K. P., 1953. Cytoplasmic localization of nucleic acids in plant cells. Nature v. 171 472—473.

Cooper C. D., 1952. The transfer of desoxyribosenucleic acid from the tapetum to the microsporocytes at the onset of meiosis. Amer. Naturalist v. 86 219—229. wg Bull. Analytique v. 14 1953 741.

Dubrova G. B., 1950. Dejstvie fitoncidov czesnoka na plesnevye griby. Mikrobiologija v. 19 229—234.

Guzowska B., Orzechowska B.. Kunicki-Goldfinger W., 1952. Własności fitoncydów cebuli *Allium cepa* L. cz. I. Acta Microbiol. Polonica v. 1 175—184.

Keck K., Hoffmann-Ostenhof O., 1951. Pflanzliche Stoffwechselprodukte als Mitosegifte. Monatshefte f. Chemie (Österreich. Akad. Wiss.) v. 82 559—562.

Keck K., Frisch-Niggemeyer W., Ascher D., Hoffmann-Ostenhof O., 1951. Inhaltsstoffe des Knoblauches und ihre Wirkungen. Monatsh. f. Chemie v. 82 755—758.

Kovalenok A. V., 1943. Mechanizm dejstvija fitoncidow na Protozoa. DAN SSSR v48 n6 wg Tokina.

Langeron M. 1949. Précis de microscopie. Paris Masson et Cie.

Marchlewski L., 1947. Chemia fizjologiczna t. I Kraków.

Rodkiewicz B., 1953. Action de phytoncides volatils sur les Myxomycètes. Bul. Soc. Sc et d. Lettres de Łódź v. 4. 8.

Skupieńska A., 1953. Influence du substratum sur le développement du myxomycète Didymium nigripes. Bul. Soc. Sc et d Lettres de Łódź v. 4. 7.

Szymona M., 1952. Wpływ fitoncydów *Allium sativum* na wzrost i oddychanie niektórych grzybów chorobotwórczych. Acta Microbiol. Pol. v. 1 5—23.

Tokin B. P., 1951. Fitoncydy Moskva AMN pp 236.

Verne J. 1929. Etude histochimique des substances aldéhydiques formées au cours du métabolisme des corps gras. Ann. Physiol. et Physicochim. Biol. v5 245—267.

Walker J. C., 1923. Disease resistance to onion smudge. Jour. Agr. Res. v. 24 1019—1039.

Vinokurov S. I., Bronja L. M., Korsak S. A., 1947. Tormoženie fitoncidami czesnoka i luka nekotorych okislitel'nych processow katalizirue-mymi tjaželymi metallami. Bjull. eksper. biol. i med. n. 4.

Yakar N., 1952. Cytochemical studies on pycnotic root-tip cells Bot. Gazet. v. 114 72—79.

Carex globularis L.—nowy dla flory południowej Polski borealny gatunek turzycy

Carex globularis L. — eine für Südpolen neue boreale Seggenart

JAN KORNAŚ

(Wpłynęło dn. 5.VII.53 r.)

Południowo-wschodnia część Wyżyny Śląskiej, położona nad dolnym biegiem rzeki Przemszy, w trójkącie pomiędzy Mysłowicami, Chrzanowem i Oświęcimiem, znana jest już od dawna jako miejsce występowania interesującej roślinności wodnej i torfowiskowej (Rehman 1868, Krupa 1877, Raciborski 1884 i i.). Spośród osobliwości florystycznych tego terenu na szczególną uwagę zasługują, obok licznych gatunków roślin kwiatowych o charkterze subatlantyckim (*Elisma natans, Rhynchospora fusca, Elatine hexandra, Drosera intermedia, Oenanthe fistulosa* i i. — Czeczottowa 1928), także i reliktowe mchy północne, występujące tutaj u południowej granicy swych zasięgów i mające niewątpliwie charakter przeżytków glacjalnych (*Scorpidium scorpioides, Meesea triquetra, M. longiseta* i i. — Szafran 1948). Obecnie do listy tych przeżytków glacjalnych przybywa jeszcze jeden, tym razem spomiędzy roślin kwiatowych: turzyca kulista — *Carex globularis* L.

Została ona odnaleziona w rozległym kompleksie leśnym, rozciągającym się pomiędzy Chełmkiem a Byczyną i Kątami koło Chrzanowa, w punkcie położonym około 2 km na północ od stacji kolejowej w Libiążu, gdzie rośnie w podmokłym borze sosnowym, stanowiącym płat zespołu *Betuletum pubescentis* (por. Braun-Blanquet, Sissingh, Vlieger 1939, Matuszkiewicz 1952). Jest rzeczą prawdopodobną, że *Carex globularis* stanowi gatunek charkterystyczny dla tego właśnie zespołu: autorzy flor północnych na ogół zgodnie wymieniają ją, jako rosnącą przede wszystkim w podmokłych borach sosnowych na torfiastej glebie.

Skład florystyczny i warunki siedliskowe płatu *Betuletum pubescentis,* w którym odnaleziono *Carex globularis* pod Libiążem, obrazuje następujące zdjęcie:



Ryc. 1. Ogólne rozmieszczenie *Carex globularis*.
Gesamtverbreitung von Carex globularis.

J 1/53. 17.V.1953. Bór sosnowy w zagłębieniu pomiędzy niewysokimi piaszczystymi wzniesieniami, zajętymi przez zespół *Pineto-Vaccinietum myrtilli*. Płasko: miejsce bagniste, poprzecinane siecią płytkich rowów odwadniających, zarośniętych przez *Sphagnum*. Sosny do 18 m wysokie, do 30 cm średnicy. Zwarcie koron 60%, podszycie bardzo skąpe, runo pokrywa łącznie 90%, rośliny kwiatowe 60%, mchy 80%. Powierzchnia zdjęcia 100 (200) m^2.

Gatunek charakterystyczny zespołu (Assoziations-Charakterart): *Vaccinium uliginosum* +. Gatunki charakterystyczne związku *Vaccinio-Piceion* i rzędu *Vaccinio-Piceetalia* (Verbands- und Ordnungs-Charakterarten): *Carex globularis* 2.2, *Vaccinium myrtillus* 4.3, *V. vitis idaea* 2.2. Gatunki charakterystyczne klasy *Vaccinio-Piceetea* (Klassen-Charakterarten): *Betula pubescens* b: +, *Calamagrostis arundinacea* 1.1, *Deschampsia flexuosa* ($+^0$), *Trientalis europea* +. Gatunki towarzyszące (Begleiter): *Pinus silvestris* a: 4.3, c: +, *Betula verrucosa* b: 1.1, *Calluna vulgaris* +, *Carex cfr fusca* ($+^0$), *Frangula alnus* b: +; *Ledum palustre* 2.2, *Molina coerulea coll.* 1.2, *Salix aurita* b: +; *Pohlia nutans* +.2, *Polytrichum comumne* 1.3, *Sphagnum recurvum* 5.5.

Profil glebowy:

A_0(T) 0—7 cm — słabo rozłożone resztki *Sphagnum* i ściółki sosnowej;
7—35 cm — torf sfagnowo-leśny, pH około 4.0

G poniżej 35 cm głębokości — piasek szaroniebieskawy, pH około 5,5.

Poziom wody gruntowej w chwili zdjęcia na głębokości około 25 cm.

Odnalezienie *Carex globularis* w południowej Polsce zasługuje na szczególne podkreślenie ze względu na charkter geograficzny tej rośliny. Jest ona mianowicie przedstawicielką elementu borealnego eurazjatyckiego (H u l t é n 1950, M e u s e l 1943), a zasięg jej mieści się niemal całkowicie w strefie tajgi eurosyberyjskiej (ryc. 1). W Azji obejmuje on Ural, niż zachodnio-syberyjski, góry Ałtaju i Kuźnieckiego Ałatau, Syberię Wschodnią oraz Daleki Wschód (rejony: ochocki, udski, ziejeburieiński i ussuryjski. Sachalin, Kamczatkę i Wyspę Karagina w ZSRR, oraz północne części Mandżurii, Mongolii i Korei — K r e c z e t o w i c z 1935, K r y ł o w 1929, K ü k e n t h a l 1909). W Europie występuje *Carex globularis* we wschodniej Norwegii, w Szwecji i Finlandii oraz w krajach bałtyckich i środkowo-północnych i północno-wschodnich rejonach europejskich części ZSRR (z wyjątkiem obszaru arktycznego) (H u l t é n 1950, K r e c z e t o w i c z 1935, K u l c z y ń s k i 1924). Południowa granica jej zasięgu (ryc. 2) przebiega tutaj od południowej Szwecji (prowincja Småland) poprzez okolice Królewca (Kaliningradu), północno-wschodnią część Pojezierza Mazurskiego (okolice Węgorzewa i Puszczę Rominicką — A b r o m e i t, N e u h o f f, S t e f f e n 1898—1940), Pojezierze Augustowskie (K o b e n d z a in litt.)[1] i północne Polesie (K o b e n d z a in litt.)[2], po czym wygina się wyraźnie ku północnemu wschodowi i, omijając Białoruś (P r o s k o r i a k o w 1949), przebiega przez okolice Dyneburga i Pskowa (L e h m a n 1895).

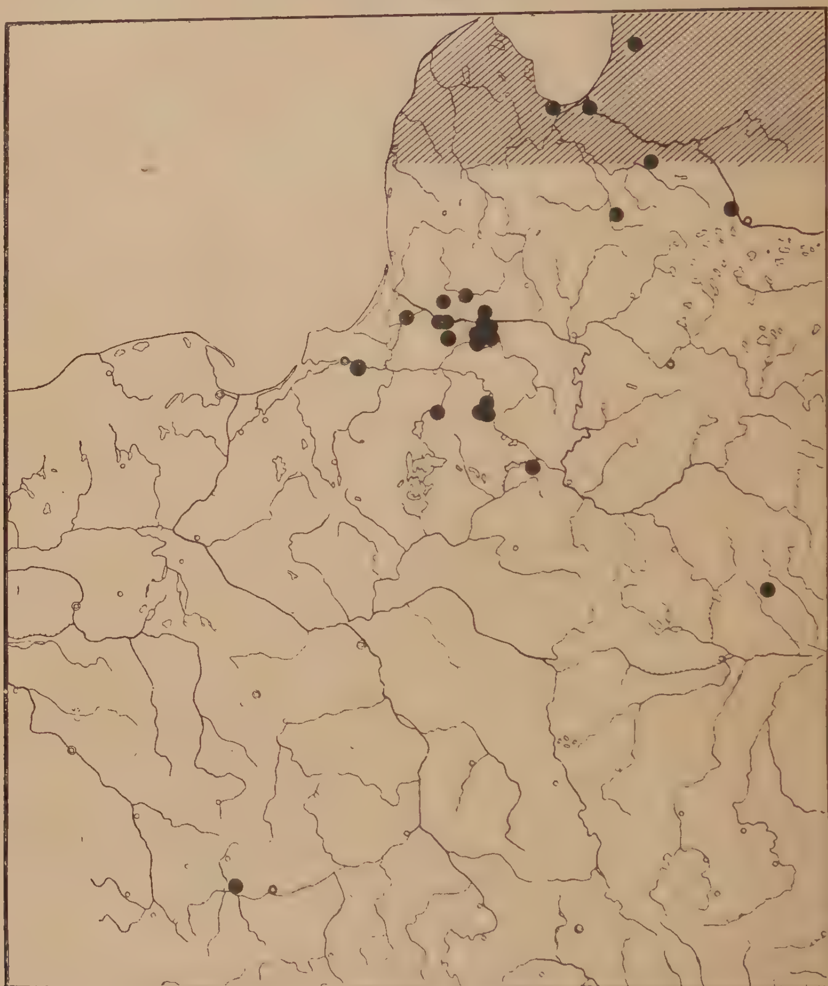
W granicach Polski odnaleziono dotychczas *Carex globularis* tylko na Pojezierzu Mazurskim (Skalisze pow. Węgorzewo — A b r o m e i t, N e u h o f f, S t e f f e n 1898—1940) i w Puszczy Augustowskiej („na uroczysku Starożyn na południowy zachód od Mikaszówki — kilkadziesiąt kęp w lesie mieszanym z przewagą świerka“ — K o b e n d z a in litt.). Ponadto podano ją także z Puszczy Rominckiej na Pojezierzu Mazurskim (A b r o m e i t, N e u h o f f, S t e f f e n l. c.), lecz tutaj jak się zdaje tylko z części północnych, a więc leżących już poza naszymi granicami.

---

[1] Panu Prof. Dr. R. K o b e n d z y serdecznie dziękuję za udostępnienie mi nieopublikowanych dotychczas danych, dotyczących odkrytych przez niego stanowisk *Carex globularis* w Puszczy Augustowskiej i na Polesiu.

[2] P r o s k o r i a k o w (1949) podaje *Carex globularis* jako gatunek możliwy do odszukania na terenie Białoruskiej S. R. R., lecz dotychczas jeszcze tam nie stwierdzony. Prof. Kobendza znalazł ją na północnym Polesiu na terenie międzyrzecza Cny i Łani około 55 km na północ od Łunińca („w lasach pod Deniszkowicami — na stokach obniżeń w miejscach zatorfionych w znacznych ilościach“ — K o b e n d z a in litt.). Stanowisko to jest pierwszym pewnym miejscem występowania *Carex globularis* na terenie B. S. R. R.

Chrzanowskie stanowisko *Carex globularis* oddalone jest więc o z górą 500 km na południowy zachód od najbliższych miejsc jej występowania na Pojezierzach i ma niewątpliwie charkter oderwany i reliktowy. Turzyca kulista jest tutaj przypuszczalnie przeżytkiem z okresu



Ryc. 2. Rozmieszczenie *Carex globularis* w Europie środkowej.

Verbreitung von Carex globularis in Mitteleuropa.

schyłku ostatniego glacjału, kiedy to między Karpatami a tundrą u czoła lądolodu północnego rozciągał się pas lasów sosnowych i modrzewiowych o charakterze zbliżonym do dzisiejszej tajgi północnej (S z a f e r 1952), chociaż i wcześniejszy wiek tego stanowiska nie jest wykluczony.

Droga wędrówki *Carex globularis* na nasze ziemie prowadziła zapewne od północnego wschodu: zarówno Kulczyński (1924), jak i Hultén (1950) zaliczają ją do grupy migracyjnej wschodniej, podobnie jak *Ledum palustre, Adromeda* (= *Chamaedaphne*) *calyculata, Conioselinum Fischeri, Carex laevirostris* i i., przypisując jej tym samym pochodzenie syberyjskie.

Z Instytutu Botanicznego Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie.

ZUSAMMENFASSUNG

Carex globularis wurde im Mai 1953 bei Libiąż (Kreis Chrzanów, ca. 50 Km westlich von Kraków) zum ersten Mal in Südpolen gefunden. Sie wächst hier in einem Kiefernbruch auf Torfboden (*Betuletum pubescentis* — s. Aufnahme im polnischen Text. S. 12) und kann wahrscheinlich als eine Charakterart dieser Pflanzengesellschaft gelten.

Carex globularis gehört zu dem boreal-eurasiatischen Element und ist in ihrem Vorkommen fast ausschliesslich auf die eurasiatisch-subarktische Nadelwaldzone („Tajga-Zone") beschränkt. (Fig. 1) In Europa erreicht sie ihre Südwestgrenze (Fig. 2) im Süd-Schweden (Prov. Småland), im Masurischen Seengebiet (Abromeit, Neuhoff, Steffen 1898—1940), im Seengebiet von Augustów (Starożyn bei Mikaszówka — Kobendza in litt.) und im nördlichen Teil des Polesie-Gebietes (Deniszkowice bei Łuniniec — Kobendza l. c.). Der neuentdeckte südpolnische Standtort ist über 500 km von dieser Linie entfernt. *Carex globularis* ist hier als ein Glazialrelikt zu betrachten, der wahrscheinlich am Ende der letzten Eiszeit vom Nordosten her bis in die Umgebung von Chrzanów eingewandert war, als im Südpolen eine Kiefern-Lärchen-Tajga vorkam (Szafer 1950).

LITERATURA

Abromeit J., Neuhoff W., Steffen H., 1898—1940. Flora von Ost- und Westpreussen. *2*, str. 1057—1058. Königsberg, Verl. Gräfe-Unzer.

Braun-Blanquet J., Sissingh G., Vlieger J., 1939. Klasse der *Vaccinio-Piceetea*. Prodromus der Pflanzengesellschaften *6*, str. 1—123.

Czeczottowa H., 1928. Element atlantycki we florze Polski. Rozpr. Wydz. Mat.-Przyr. PAU, *65—66*, str. 221—286.

Hegi G., bez daty. Illustrierte Flora von Mitteleuropa. *2*, str. 88. München. Lehmans Verl.

Hultén E., 1950. Atlas över växternas utbredning i Norden. str. 63*, 95*, 94. Stockholm Generalstabens Litografiska Anstalts Förlag.

Hryniewiecki B., 1933. Tentamen Florae Lithuaniae — Zarys flory Litwy. Arch. Nauk Biol. Tow. Nauk. Warsz. *4*, str. 253, 286—290.

K r e c z e t o w i c z W. I., 1935. Osoka — *Carex* L. Flora SSSR, *3*, str. 317. Moskwa — Leningrad. Izd. AN SSSR.

K r y ł o w P., 1929. Flora zapadnoj Sibiri. *3*, str. 483—485. Tomsk. Izd. Tomsk. Otd. Russk. Bot. Obszcz.

K r u p a J., 1877. Wykaz roślin zebranych w obrębie W. Ks. Krakowskiego oraz w Puszczy Niepołomickiej w r. 1876. Spraw. Kom. Fizjogr. A. U., *11*, str. (84)—(128).

K ü k e n t h a l G., 1909. *Cyperaceae* — *Caricoideae*. Das Pflanzenreich IV, 20 str. 437.

K u l c z y ń s k i S., 1924. Das boreale und arktisch-alpine Element in der mitteleuropäischen Flora. Bull. Acad. Polon. Sc. Cl. Math. Nat., B. 1923. str. 127—214.

L e h m a n G., 1895. Flora von Polnisch-Livland ... str. 165. Jurjew (Dorpat). C. Mattiesen.

M a t u s z k i e w i c z W., 1952. Zespoły leśne Białowieskiego Parku Narodowego. Ann. Univ. MCS Lublin, sect. C, suppl. *6*, str. 1—218.

M e u s e l H., 1943. Vergleichende Arealkunde. *1*, str. 164. 314. 318. *2*, str. 25. Berlin-Zehlendorf, Gebr. Borntraeger.

P r o s k o r i a k o w E. P., 1949. Osoka — *Carex* L. Flora BSRR *1*, str. 298. Moskwa, Ogiz-Sel'chozgiz.

R a c i b o r s k i M., 1884 Zmiany zaszłe we florze okolic Krakowa w ciągu ostatnich lat dwudziestu pięciu pod względem roślin dziko rosnących. Spraw. Kom. Fizjogr. AU, *18*, str. (99)—(126).

R a c i b o r s k i M., 1919. *Cyperaceae* — Turzycowate. Flora Polska. *1*, str. 212. Kraków, Nakł. Akad. Umiejętn.

R e h m a n A., 1868. Sprawozdanie z wycieczki botanicznej w zachodnią część Galicyi. Spraw. Kom. Fizjogr. A. U. 2, str. 1—10.

S z a f e r W., 1952. Schyłek plejstocenu w Polsce. Biul. PIG *65*, str. 32—73.

S z a f e r W., K u l c z y ń s k i S., P a w ł o w s k i B., 1924. Rośliny polskie. Str. 79. Lwów-Warszawa, Książnica-Atlas.

S z a f r a n B., 1948. Przeżytki z epok ubiegłych we florze mchów Polski i wschodnich krajów sąsiednich. Ochrona Przyrody *18*, str. 41—65.

Oleje roślinne jako źródło prowitaminy A (β-karotenu)

Vegetable oils as a source of provitamin A (β-carotenes)

T. BASZYŃSKI

(Wpłynęło dn. 15.VI.53 r.)

I. Wstęp

Wartości witaminowe roślin oleistych nie były w Polsce dotychczas publikowane. Spotykane w literaturze wzmianki wskazują na obecność prowitaminy A w olejach z następujących roślin: *Brassica napus oleifera* Metzger, *Linum usitatissimum* L., *Helianthus annuus* L., *Cucurbita pepo* L.

Rozwój przemysłu tłuszczowego i zwiększone zapotrzebowanie na oleje wymaga wprowadzenia do uprawy nowych roślin oleistych i wszechstronnego ich przebadania.

Zabarwienie większości olejów roślinnych wskazuje na obecność lipochromów.

Praca niniejsza ma odpowiedzieć jak wysoki w nich jest poziom prowitaminy A (β-karotenu) i czy wobec tego oleje roślinne można uważać za źródło prowitaminy A. Wykazany niedobór witaminy A u ludności Polski, zwłaszcza w miesiącach wiosennych, nadaje tego rodzaju badaniom specjalny wyraz (1).

II. Metodyka pracy

Do analizy wzięto 14 roślin, oleistych uprawianych w Polsce, dostarczonych przez Stację Hodowlano-Badawczą IHAR w Borowie, oraz i nagietek wyhodowanych w Ogrodzie Botanicznym Akademii Medycznej w Białymstoku. Oznaczano jedynie karotenoidy biologicznie czynne, wyrażając je jako sumę izomerów α, β, γ-karotenu. Wyniki podane w mcg/100 g nasion, jak również w mg/1 l. oleju. Karotenoidy biologicznie czynne oznaczano wg metody opisanej przez A. J e r m a k o w a (2). Karoten oddzielano od pozostałych barwników za pomocą chromatografii kolumnowej na Al_2O_3. Oleje wykazujące większe ilości

chlorofilu poddawano wstępnej chromatografii dla jego oddzielenia stosując kolumnę przygotowaną z $MgCO_3$ i sacharozy.

Przedstawiona metoda nie stosuje zmydlania tłuszczu. Poczyniono próby polegające na zmydleniu ich alkoholowym roztworem KOH, a następnie ekstrakcji eterem naftowym. Ze względu na konieczność stosowania dużych stężeń KOH oraz wysokiej temperatury w ciągu długiego czasu (15—20 godz.) uzyskano bardzo niskie wyniki, znajdujące wytłumaczenie we wrażliwości karotenu na powyższe czynniki. Z tego powodu zaniechano zmydlania. Ilościowe oznaczenie wykonano na fotokolorymetrze typu „Lumetron" przy użyciu filtru niebieskiego o długości fali 420 μm. Zawartość tłuszczu oznaczono w aparacie Soxhleta. Jako rozpuszczalnika używano benzyny lekkiej o gr. wrz. 50—70°. Wybór benzyny uwarunkowany był jej selektywnym działaniem i powszechnym stosowaniem w olejarniach ekstrakcyjnych.

III. Omówienie wyników

TABELA 1.

	% tłuszczu	β-karoten w mcg/100 g nasion	β-karoten w mg 1 l. oleju
Nagietek (*Calendula officinalis* L.)	13,37	32,51	24.15
Krokosz (*Carthamus tinctorius* L.)	16,70,	21,00	12,58
Kapusta abisyńska (*Crambe abyssinica* Hochst.)	35,53	35,84	10.09
Dynia oleista (*Cucurbita pepo* L.)	50,71	25,75	5,08
Rzodkiew oleista (*Raphanus sativus oleiferus* Metzger)	41,03	17,71	4.32
Gorczyca biała (*Sinapis alba* L.)	27,64	10,40	3.76
Soja wczesna (*Glicyne hispida* Maks)	23,62	7,14	3.02
Pachnotka (*Perilla ocymoides* L.)	41,54	12,40	2.99
Rzepak jary bronowski (*Brasica napus* L. var. *oleifera* Metzger)	40,20	7,71	1,92
Len (*Linum usitatissimum* L.)	42,30	7,92	1.87
Lnianka (*Camelina sativa* Cr.)	30,62	4,64	1.52
Słonecznik (*Helianthus annuus* L.)	32,30	2,80	0,87
Mak niebieski (*Papaver sommiferum* L.)	51,90	—	—
Rącznik (*Ricinus communis* L.)	52,00	—	—
Nicandra (*Nicandra physaloides* L.) Gärtn.)	23,72	0,71	0,30

W tabeli 1 zestawiono wyniki analiz. Zawartość β-karotenu w olejach waha się w dość szerokich granicach. Największe ilości β-karotenu zawiera krokosz, kapusta abisyńska i nagietek. Nagietek o niewielkiej zawartości tłuszczu nie posiada dotychczas praktycznego znaczenia. Nie udało się uzyskać zupełnie karotenu z oleju maku niebieskiego i rącznika, co zresztą nie było niespodzianką ze względu na bezbarwny olej.

Olej słonecznikowy zawiera 0,87 mg β-karotenu/1 litr oleju.

M o l d e n h a w e r (4) podaje do 2 mg karoteinodów na 1 l. oleju słonecznikowego, nie wiadomo jednak czy wartość ta odnosi się do wszystkich obecnych karotenoidów, czy też prowitaminy A. Zresztą ilość karotenu zależy od dojrzałości nasion, pory zbioru, czasu i sposobu przechowania. Uderzającym jest fakt, że z wyjątkiem nagietka (brak danych) prawie wszystkie oleje zawierające większe ilości karotenu są również dobrymi olejami jadalnymi.

Analiza chemiczna nie daje pełnego obrazu biologicznej czynności β-karotenu. Należałoby przeprowadzić również próby biologiczne. Wiadomo powszechnie, że olejowe roztwory karotenu są lepiej przyswajalne przez organizm niż inne postacie. Z tych też względów oleje jadalne o wyższej zawartości prowitaminy A mogą mieć duże znaczenie odżywcze.

IV. Streszczenie wyników

Wyniki niniejszej pracy wykazują, że tylko niektóre oleje roślinne mogą być brane pod uwagę, jako źródło prowitaminy A.

Największe ilości β-karotenu otrzymano z olejów kapusty abisyńskiej (10,09 mg/1 l. oleju), krokoszu (12,58 mg/1 l. oleju), nagietka (24,15 mg/1 l. oleju).

Soja, dynia oleista, rzodkiew oleista, gorczyca biała należą do olejów średnio bogatych w prowitaminę A. Oleje jadalne o wysokiej zawartości prowitaminy A należy jak najszerzej wykorzystać (podbarwianie margaryny, bezpośrednie użycie, zużycie dla celów farmaceutycznych).

Należałoby przebadać przyswajalność olejowych roztworów karotenu przez organizm. Opracować techniczne wykorzystanie olejów przy równoczesnym zachowaniu jak największej ilości prowitaminy A.

Z Zakładu Biologii Akademii Medycznej w Białymstoku
Kierownik: Prof. dr inż. Witold Sławiński

SUMMARY

The content of the biologically active carotenoids in the oils from fifteen plants species (see Polish text) were studied. For quatitative determinations according to Jermakow's method the „Lumetron" photocolorimeter was used. The highest amount of β-carotenes was found in the oils from the seeds of *Crambe abyssinica* Hochst. 10,09 mg/1 oil), safflower (12,68 mg/1 oil) and of *Calendula officinalis* L. (24,15 mg/1 oil). The oils from soybean, squash, rape and white mustard are much less rich in provitamin A. It is concluded that the oils with the highest amounts of the carotenoids can be used as a source of the provitamin A.

LITERATURA

1. Szczygieł A., Zahorska A., Berger St., Szczygłowa M., Rudowska J., Woźniak E. 1951. Rocznik P. Z. H., II, 4, 293.
2. Jermakow A. J., Arasimowicz W. W., Smirnowa-Ikonnikowa M. J., Murri I. K., 1952. Metody biochimiczeskogo issledowanija rastenij. Moskwa Selchozgiz 144.
3. Struszyński M. 1950. Analiza ilościowa i techniczna, Warszawa CUSZ, III, 627.
4. Moldenhawer K. 1953. Przemysł Rolny i Spożywczy, T. VII, 2, 58.

Wpływ drożdży *Saccharomyces cerevisiae* na rozwój niektórych śluzowców

Influence de la levure Saccharomyces cerevisiae sur le développement de certains myxomycètes

FRANCISZEK KSAWERY SKUPIEŃSKI

Z Zakładu Anatomii i Cytologii Roślin U. Ł.

(Wpłynęło dn. 3.X.53 r.)

Badania nad wpływem drożdży na rozwój niektórych śluzowców prowadzone były na trzech gatunkach tych organizmów, a mianowicie na *Didymium nigripes* F r., *Didymium difforme* D u b y i *Physarum polycephalum* S c h w e i n., otrzymanych z gnijącego siana w krystalizatorze w Zakładzie Anatomii i Cytologii roślin Uniwersytetu Łódzkiego. Z materiału tego wyhodowałem czyste kultury doświadczalne na agarze z rozcieńczoną brzeczką słodową lub z wywarem z marchwi i kartofla. Na tych pożywkach wszystkie trzy śluzowce rosną bardzo dobrze, w szczególności *Physarum polycephalum*.

Istnieje bardzo bogata literatura dotycząca wpływu składu podłoża na rozwój śluzowców. W ostatnich latach zostały poświęcone tej sprawie, a w szczególności wpływowi drożdży żywych lub zabitych na ontogenezę licznych śluzowców, prace ogłoszone przez A. L. C o h e n a (1, 2) i przez J. C. S o b e l s (8). Cohen karmił plazmodia różnych śluzowców drodżami żywymi i zabitymi *Saccharomyces ellipsoideus*, i w obu wypadkach plazmodia owocowały. J. C. Sobels używała do swych hodowli drożdży piekarnianych *Saccharomyces cerevisiae*, zabitych i żywych, również z pełnym powodzeniem.

Użyte przeze mnie do badań drożdże *Saccharomyces cerevisiae*, hodowane w czystych kulturach, wyprowadziłem ze zwykłych drożdży prasowanych. Stosowałem drożdże żywe i martwe (zabijane w sterylizatorze Kocha).

Bardzo ważnym zagadnieniem w rozwoju śluzowców jest sprawa współżycia tych organizmów z bakteriami. Nie ma śluzowca, który by mógł żyć samodzielnie bez bakterii. W pracy mojej nad rozwojem *Didy-*

mium difforme (6) wykazałem, że pomiędzy śluzowcem i bakterią istnieje wyraźna symbioza. Jeżeli się osłabi w jakikolwiek sposób rozwój bakterii, śluzowiec ulega również osłabieniu i kończy zupełną degeneracją. Dopiero kiedy do osłabionych i anemicznych kultur wprowadzi się dodatkowo jakąś inną żywą bakterię, plazmodia nabierają w szybkim tempie dużej żywotności, łączą się ze sobą w jedno silnie rozbudowane plazmodium, które po kilku dniach owocuje.

W trakcie moich badań stwierdziłem (patrz wyżej wymieniona praca), że plazmodia nie gardzą, poza bakteriami, i innym pożywieniem w postaci różnych pleśni, fragmentów grzybni grzybów wyższych, jak to również stwierdził G. M a n g e n o t na plazmodiach *Fuligo* (4), glonów i wreszcie drożdży.

Jest rzeczą naturalną, że, aby określić ściśle rolę jakiegoś obcego organizmu w rozwoju śluzowca, czy to nim będzie pleśniak, czy glon, czy jakaś obca bakteria, czy wreszcie drożdże, należy przede wszystkim usunąć ze współżycia ze śluzowcem bakterię z nim związaną. Jest jednakże niemożliwe, w obecnym stanie techniki, rozdzielić oba organizmy tak, aby otrzymać zupełnie czyste plazmodia. Wszelkie zabiegi, mające na celu zabicie bakterii (temperatura, środki chemiczne) prowadzą przede wszystkim do zabicia samego śluzowca. Sprawie czystych kultur śluzowców poświęcony został w ostatnich latach szereg prac, jak prace A. L. C o h e n a (1, 2), M. L o c q u i n a (3) i J o a n n y C. S o b e l s (8). Autorzy ci opisują różne metody oczyszczania plazmodiów z bakterii, ale żadna z nich nie daje 100% gwarancji, że oczyszczone plazmodia są naprawdę czyste, a jeżeli są zupełnie czyste to, że są żywe.

Starano się dotychczas uwolnić plazmodia śluzowców od bakterii: a) przez sterylizację zarodników przed ich kiełkowaniem; b) przez kiełkowanie zarodników w wielkiej masie płynu odżywczego — co rzadko doprowadzało do otrzymania czystych kultur; c) przez przeprowadzanie plazmodiów przez środowisko sterylne i nieodżywcze. Nie zawsze się te zabiegi udawały, bo zarodniki nie wszystkich śluzowców znoszą działanie antyseptyków przy pierwszej metodzie, (a) lub giną z głodu podczas dziesięciokrotnego przeprowadzania ich przez środowisko nieodżywcze i antyseptyczne (M. L o c q u i n).

Na specjalną uwagę zasługuje praca J. C. S o b e l s (l. c.). W rozdziale VIII-tym cytowanej pracy, na stronicy 84, w części 5-ej, zatytułowanej: „Metody dodatkowe oczyszczania plazmodiów" autorka pisze: „Pour éviter les nombreux repiquages sur gélosel avée inhérants à la méthode de purification habituellement employée et pour détruire les bactéries difficiles à éliminer, nous avons mis au point une technique nouvelle.

Nous avons tout d'abord essayé sans succès trois méthodes dont la première consistait simplement à traiter la culture de plasmode par le milieu de Raulin (69), en la recouvrant de cette solution. Le plasmode arrete de se développer, mais les bactéries restent vivantes. La seconde méthode, mettait en oeuvre le sulfamide 1162F, aux concentrations de $1 \cdot 10^{-3}$ et $1 \cdot 10^{-4}$. Ni le plasmode, ni les bactéries ne souffrent de la présence de ce produit. Un traitement de la culture de plasmode pendant 20 minuts avec de l'eau oxoygénée à 6 ou 12 volumes (un volume d'eau oxygéné à 12 volumes par exemple, peut dégager 12 volumes d'oxygéne), donne seulement une contraction du plasmode qui reste vivant, les bactéries ne sont pas tuées. Si on fait agir l' H_2O_2 pendent un temps plus long que 20 minutes, seul le plasmode meurt.

Nous avons enfin utilisé avec succès la méthode qui consiste à faire agir le mélange pénicilline (10 U. O.) — streptomycine (10 U. G.) dilué dans 10 cc d'eau bidistillée stérile. Aprés un contact de 24 heures, ce liquide est enlevé, et le plasmode est repiqué le jour suivant (Sobels (85).

Malgré l'efficacité de cette dernière méthode, il ne nous a pas encore été possible de conserver les quatre derniers plasmodes en culture pure."

Z zacytowanego tu ustępu wynika, że żadna z zastosowanych metod nie dała pozytywnego wyniku, nawet mieszanina penicyliny z streptomycyną. Próby zabicia bakterii i zachowania przy życiu plazmodiów zrobiły zupełne fiasko. Można jedynie osłabić bakterię czy to przez założenie kultury na pożywce powtórzonej*, czy przez założenie na pożywce zupełniej chudej, tj. na czystym, płukanym agarze na wodzie dystylowanej. Na tym podłożu bakterie żyją i rozmnażają się bardzo źle, przeto niedostatek ich wyraźnie odbija się na charakterze plazmodiów, które w tej sytuacji są bardzo drobne i bardzo anemiczne. Na takim jałowym podłożu drobniutkie plazmodia słabo się łączą w większe plazmodia, a słaby rozwój bakterii nie nadąża za potrzebami pokarmowymi śluzowca; jest wprost za mało bakterii dla zaspokojenia jego głodu. Ponieważ w podłożu bakterii jest coraz mniej, na skutek zjadania ich przez plazmodia, proces rozwojowy śluzowca nie dobiega do końca, plazmodia tworzą cysty i przechodzą w stan spoczynku. Od tego momentu można rozpocząć obserwację nad wpływem drożdży na rozwój śluzowców.

---

* Założenie kultury powtórzonej polega na tym, że blok agarowy, na którym odbył się całkowity cykl rozwojowy śluzowca, zalewamy wodą i całość sterylizujemy trzykrotnie. Na otrzymanym podłożu szczepimy świeże zarodniki tego samego gatunku śluzowca. Na takim odnowionym podłożu śluzowiec rozwija się bardzo źle: plazmodia są bardzo drobne, anemiczne i zazwyczaj nie dochodzi do ich owocowania.

W celu przeprowadzenia badań, założyłem kilka serii kultur, w różnych odstępach czasu w próbówkach wielkości 2/20 cm, oraz szklanych naczyniach płaskich Kolle, zwanych sojkami, dających powierzchnię pożywki agarowej około 90 cm². Kultury przechowywane były zawsze w temepraturze pokojowej.

I-a seria kultur

W tej serii założyłem kultury trzech śluzowców: *Didymium nigripes, Didymium difforme* i *Physarum polycephalum* na czystym agarze na wodzie dystylowanej, w próbówkach wielkości 20/2 cm.

A. *Didymium nigripes*

Zarodniki, użyte do kultur tego śluzowca, pochodzą z zarodni powstałych na agarze z wywarem z marchwi i kartofla (w kulturach czystych). Po mniej więcej dziesięicu dniach na powierzchni wszystkich kultur pojawiły się drobniutkie i anemiczne plazmodia. Do połowy kultur wprowadziłem (w dwa tygodnie po ich założeniu) po porcji drożdży, pobranych z czystych hodowli; porcja drożdży w moich doświadczeniach stanowi ilość drożdży, która daje się zaczerpnąć uszkiem igły platynowej o średnicy około 3 mm, co na wagę wynosi około 5 mg. Po pięciu dniach, w kulturach tych, dokoła każdego złoża drożdżowego pojawiły się plazmodia większego kalibru, łatwo dostrzegalne gołym okiem. W dalszym etapie plazmodia rozrosły się jeszcze więcej, a jednocześnie złoże drożdżowe mocno się zmniejszyło. W bloku agarowym plazmodia potworzyły głębokie wyżłobienia, odpowiadające ich formie. Widać tu wyraźne współdziałanie drożdży w procesie enzymetycznym śluzowca, wyrażające się w obfitszej niwelacji agaru przez plazmodium.

Tak odżywione i rozrośnięte plazmodia zaczęły, mniej więcej w dwa tygodnie po wprowadzeniu drożdży, przekształcać się w owocniki. W związku z tym zasługuje na uwagę znamienny fakt. Mianowicie, w niektórych kulturach plazmodia, pomimo że są najedzone drożdżami i silnie rozwinięte, nie owocują, dopiero dodanie nowej porcji drożdży przyśpiesza proces owocowania; jeżeli natomiast takie niedokarmione plazmodium nie otrzyma nowej porcji drożdży, nie wytworzy owocników i ulegnie w końcu degeneracji. Należałoby w związku z tym przypuścić, że rytm dojrzewania plazmodiów czy to w środowisku naturalnym, czy w kulturach czystych, idzie w parze z ilością pobranego pożywienia: wystarczy niekiedy niewielka ilość dodatkowych komórek drożdżowych, aby plazmodium osiągnęło kulminacyjny punkt dojrzałości i wyowocowało. Powstałe w takich kulturach owocniki nie odbiegają, tak pod względem formy jak i struktury od owocników, tworzących się w środowisku naturalnym.

W drugiej połowie kultur, które nie otrzymały drożdży, plazmodia zachowały, w ciągu dwóch miesięcy od daty ich powstania, pierwotny swój anemiczny wygląd, nie zdradzając absolutnie tendencji w kierunku wyowocowania. Aby się przekonać, czy plazmodia te zachowały swą zdolność rozwojową, wprowadziłem do każdej z kultur po zwykłej porcji drożdży. W dwunastu na dwadzieścia takich kultur pojawiły się dość szybko, bo już w pięć dni po wprowadzeniu drożdży, duże plazmodia, które z nadzwyczajną energią pożerały złoża drożdżowe. We wszystkich tych kulturach tak ożywione i dożywione plazmodia wyowocowały, tworząc normalne zarodnie, w 14 do 16 dni po dodaniu drożdży. W pozostałych ośmiu kulturach anemiczne plazmodia, mimo otrzymania świeżych drożdży, wcale się nie poprawiły; po bliższym ich zbadaniu okazało się, że są one martwe; prawdopodobnie długotrwała głodówka była powodem ich śmierci.

Ciekawym i stale powtarzającym się zjawiskiem jest to, że plazmodia głodzone przez dłuższy okres czasu (jak to było z ostatnimi dwudziestu kulturami), nabierają od samego początku, po wprowadzeniu drożdży, nadzwyczajnego wigoru i liczba zarodni, które z nich się tworzą, jest daleko większa niż w kulturach, w których głodówka trwała krócej. Mielibyśmy tutaj do czynienia z dodatnim wpływem przedłużonego głodu na podniesienie się plonu śluzowca.

B. *Didymium difforme*

W tym samym czasie i z zastosowaniem tej samej metody, co dla wyżej opisanego śluzowca, założyłem kultury *Didymium difforme*. Stwierdziłem od razu, że ten śluzowiec zachowuje się zupełnie inaczej niż dwa inne, użyte do doświadczeń. Plazmodia na czystym agarze tworzą się również w dużej ilości, są drobne i anemiczne jak plazmodia *Didymium nigripes*, ale różnią się od tych ostatnich tym, że mimo otrzymania drożdży ulegają zazwyczaj degeneracji; w nielicznych tylko kulturach tworzą się albo drobne okrągłe owocniki, normalne pod względem strukturalnym, albo okrągłe cysty koloru kremowego. Z całego szeregu powtórzeń mogłem wywnioskować, że drożdże nie sprzyjają rozwojowi *Didymium difforme*.

C. *Physarum polycephalum*

Ten organizm daje najlepsze efekty w doświadczeniach nad wpływem drożdży na rozwój śluzowców.

We wszystkich kulturach powstały, na agarze jałowym, już w siedem dni po zasianiu zarodników, liczne drobne plazmodia, które wyżłobiły w podłożu wyraźne rozgałęzione wgłębienia, odpowiadające ich kształtom oraz okrągłe i głębokie jamki. Po dwóch tygodniach od poja-

wienia się plazmodiów, w żadnej z kultur nie było owocowania. Stwierdziwszy ten fakt, wprowadziłem do połowy kultur po porcji drożdży, a więc takiej samej ilości jak do kultur dwu poprzednich gatunków śluzowców (około 5 miligramów na kulturę). W krótkim czasie, bo po czterech już dniach, potworzyły się w tych kulturach duże pojedyncze plazmodia przez zlanie się drobnych i rozproszonych plazmodiów. Nowoutworzone plazmodia rozpostarły się szerokim wachlarzem na podłożu agarowym, nabierając barwy żółtej i wydrążając w podłożu głębokie rowki oraz jamki, wyrazistsze i głębsze niż te, które wytwarzają plazmodia anemiczne, źle odżywiane. Tak rozrośnięte plazmodia przekształciły się po dziesięciu dniach, w owocniki. Charakterystyczne jest, że liczba owocników, które powstały w takich „podpędzonych" kulturach, nie jest wielka, mianowicie od dwóch do czterech owocników w jednej kulturze. We wszystkich kulturach owocniki są zbudowane normalnie tj. w sposób, w jaki są zbudowane owocniki w środowisku naturalnym. W drugiej połowie kultur, które nie otrzymały drożdży, nie powstał ani jeden owocnik w okresie dwu miesięcy od daty zaszczepienia zarodników. Plazmodia w ciągu tego długiego okresu głodowania zachowały swą żywotność, poruszały się stale z miejsca na miejsce, lecz nie posiadały dostatecznych warunków do wyowocowania. Do wszystkich tych kultur, w dwa miesiące po rozsianiu zarodników, a w siedem tygodni po powstaniu plazmodiów, wprowadziłem drożdże w takiej samej ilości jak do kultur poprzednio opisanych. Drobniutkie plazmodia, będące dotychczas w stanie anemicznym, skupiły się w ciągu kilku dni dokoła złóż drożdżowych i pożerając je energicznie, powyrastały w duże, silnie rozgałęzione plazmodia, które w końcu zrosły się w jedno duże, silnie rozgałęzione plazmodium. Taki przebieg faktów miał miejsce we wszystkich kulturach bez wyjątku. W osiemnaście dni po wprowadzeniu drożdży plazmodia zaczęły owocować, przy tym stwierdziłem ciekawe zjwaisko, mianowicie we wszystkich kulturach powstało trzy razy więcej owocników niż w pierwszej części kultur, bo od jedenastu do piętnastu w każdej kulturze (w poprzedniej grupie kultur tylko 2—4 owocniki). Fakt ten wydaje mi się o tyle ciekawszy, że warunki dla obu grup kultur były jednakowe: skład pożywki, rozpiętość jej powierzchni oraz temperatura. Tę trzykrotnie większą ilość powstałych owocników w drugiej grupie kultur należy, moim zdaniem, przypisać długotrwałemu procesowi głodzenia plazmodiów, trwającemu 50 dni wtedy, kiedy głodzenie plazmodiów w pierwszej grupie kultur trwało tylko 7 dni. Stwierdziłem jednocześnie, że dłużej głodzone plazmodia *Physarum polycephalum* pożerają energiczniej drożdże, ale nie mniej energicznie pożerają wraz z drożdżami i agar: na miejscu, gdzie znajduje się złoże drożdżowe, tworzy się w płycie agarowej obszerna kawerna, sięgająca ścianki probówki. Kwestię poże-

rania agaru przez plazmodia śluzowców potraktowałem w sposób specjalny tak w mojej pracy z 1920 r. (5), jak i w pracy z 1928 r. (6). Wówczas już stwierdziłem, że w obecności niektórych mikroorganizmów (jak np. Sarcyny) plazmodium jest w stanie rozpuszczać agar, tworząc w nim głębokie jamki. Odnosiło się to jednakże do plazmodiów *Didymium difforme*, które istotnie rozpuszczają aktywnie agar w obecności niektórych bakterii i pleśni, a najsłabiej w obecności drożdży. Ówczesne moje obserwacje, dotyczące słabego rozpuszczania agaru przez plazmodia *Didymium difforme* w obecności drożdży, potwierdziły się w całej rozciągłości w trakcie obecnych badań.

II-a seria kultur

Zarodniki trzech wyżej wspomnianych śluzowców pobranych z czystych kultur, zostały rozsiane na pożywce czystej, chudej (agar na wodzie dystylowanej), w naczyniach płaskich Kolle. Po dziesięciu dniach, we wszystkich kulturach, pojawiły się plazmodia, rozproszone po całej powierzchni pożywki, drobne, anemiczne jak w poprzednio opisanych kulturach. Po dalszych piętnastu dniach charakter kultur nie zmienił się, były te same drobne i anemiczne plazmodia. W tym stanie rzeczy umieściłem w każdej kulturze, w samym środku płyty agarowej, mierzącej około 90 cm^2, po zwykłej porcji czystych drożdży. W krótkim czasie złoża drożdżowe zostały opanowane przez plazmoidia. Po kilku dniach ze złóż tych nie pozostało prawie śladu, ale zato mało dostrzegalne dotychczas plazmodia wyrosły w okazałe plazmodia zabarwione na kolor kremowy. Najokazalsze plazmodia dały kultury *Physarum polycephalum*, mniej okazałe — *Didymium nigripes*, a najsłabsze — *Didymium difforme*.

Po wykończeniu złóż drożdżowych, odkarmione i powiększone plazmodia odrywają się od ich resztek i wędrują w inne, dalej położone punkty płyty, gdzie po kilku dniach wytwarzają owocniki. Najobficiej wyowocowały plazmodia *Physarum polycephalum*, a najsłabiej plazmodia *Didymium difforme*, przy czym owocniki tego ostatniego nie dojrzały zupełnie w tych warunkach, co potwierdziło wcześniej już otrzymane wyniki w obrębie tego gatunku śluzowca. Pierwotne drobne plazmodia *Physarum polycephalum*, które znalazły się na peryferii płyt agarowych, a więc zdala od centralnie położonego złoża drożdżowego i które nie zostały zagarnięte przez odkarmione i wyrośnięte w centralnej części płyty agarowej plazmodium, zachowały swój pierwotny anemiczny wygląd. Dopiero wprowadzenie dodatkowych złóż drożdżowych w zasięgu tych plazmodiów, pobudziło je do intensywnego rozrostu i w końcu do owocowania. Ciekawy tu bardzo jest stosunek pomiędzy rozrastającym się plazmodium, ilością wprowadzonych (i zjedzonych) drożdży i ilością

powstałych owocników. Stosunek ten wydaje się być stałym, czy to będzie kultura o małej powierzchni podłoża (w probówce), czy kultura o powierzchni dużej (w sojce); plazmodium, po pobraniu pewnej ilości wprowadzonych drożdży, przekształca się w jednakową liczbę owocników. Decyduje tutaj, jak widać, ilość drożdży spożytych przez plazmodium, a nie przestrzeń rozwojowa śluzowca: jeżeli jest nadmiar wprowadzonych drożdży, to plazmodium po zaspokojeniu koniecznych swych potrzeb, opuszcza niedojedzone złoże, oddala się od niego i owocuje; gdy natomiast wprowadzimy niedostateczną ilość drożdży, to plazmodium po ich całkowitym zjedzeniu nie jest jeszcze w stanie wyowocować, dopiero wprowadzenie dodatkowej porcji drożdży umożliwia proces owocowania.

III-a seria kultur

Zarodniki trzech wyżej wspomnianych śluzowców zostały zaszczepione na pełnej pożywce z agaru na wywarze z marchwii i ziemniaka, po 20 kultur dla każdego gatunku śluzowca. Jednocześnie z zaszczepieniem zarodników, do połowy kultur każdego śluzowca wprowadziłem po porcji drożdży czystych. W kilka dni później, w kulturach *Physarum polycephalum* z drożdżami pojawiły się plazmodia silniejsze i liczniejsze niż w kulturach bez drożdży.

W kulturach *Didymium nigripes* bez drożdży w tym samym czasie nie pojawiło się ani jedno plazmodium, w kulturach natomiast z drożdżami, w dwóch z tych kultur, powstały silne plazmodia.

Jeżeli chodzi o *Didymium difforme*, to nie powstały plazmodia ani w kulturach bez drożdży ani w kulturach z drożdżami.

Kultury skontrolowane w 10 dni po rozsianiu zarodników wykazują następujące cechy:

Physarum polycephalum — silny rozwój plazmodiów w kulturach z drożdżami i w kulturach bez drożdży, jednakże w obecności drożdży plązmodia są wyraźnie silniejsze.

Didymium nigripes — we wszystkich kulturach z drożdżami pojawiły się plazmodia (początkowo utworzyły się one w dwóch tylko kulturach), w kulturach natomiast bez drożdży plazmodia nie pojawiły się.

Didymium difforme — w dalszym ciągu nie było plazmodiów ani w kulturach bez drożdży ani w kulturach z drożdżami.

Kontrola kultur w cztery miesiące po ich założeniu dała następujące wyniki:

Physarum polycephalum — we wszystkich kulturach występują plazmodia o wyglądzie czerstwym. Jednakże w tych kulturach, które otrzymały drożdże, plamodia są już na oko silniejsze niż w kulturach, które drożdży nie otrzymały. Nie wiadomo, z jakiej przyczyny nie doszło

do owocowania; zaważył tu prawdopodobnie charakter podłoża (wywar z marchwi i ziemniaka).

Didymium nigripes — W kulturach bez drożdży w dalszym ciągu nie było plazmodiów, zato w kulturach z drożdżami potworzyły się owocniki dwu kategorii: normalne, trzoneczkowate i siedzące, placuszkowate, powyginane o wyglądzie etalialnym.

Didymium difforme — Ten śluzowiec zachowuje się, w tych samych warunkach, zupełnie inaczej niż dwa poprzednie. W kulturach z drożdżami plazmodia nie pojawiły się wcale; analiza mikroskopowa płynu kondensacyjnego wykazuje, że zawarte w nim zarodniki śluzowca nie wykiełkowały w obecności drożdży. W kulturach bez drożdży zarodniki wykiełkowały, ale plazmodium powstało tylko w jednej kulturze (na 10).

IV-a seria kultur

W tej serii uwzględniłem jeden tylko gatunek śluzowca — *Physarum polycephalum.*

Założyłem dwie grupy kultur na agarze czystym na wodzie dystylowanej. Do założenia grupy pierwszej (A) kultur użyłem zarodników pochodzących z zarodni powstałych na agarze z wywarem z marchwi i ziemniaka.

Do założenia grupy drugiej (B) użyłem zarodników pochodzących z zarodni powstałych na agarze w obecności żywych drożdży.

Już po dziesięciu dniach we wszystkich kulturach obu grup powstały drobne, anemiczne plazmodia.

Grupa A. Do kilku kultur tej grupy wprowadziłem po jednej porcji żywych drożdży. Po kilkunastu godzinach drobne plazmodia skupiły się przy złożu drożdżowym i bardzo aktywnie je pożerały, przyczym dokoła każdego złoża utworzyła się w agarze głęboka zapadlina — rezultat działalności enzymatycznej plazmodiów. W krótkim czasie złoża drożdżowe zostały całkowicie zjedzone, a drobne plazmodia połączyły się w jedno duże, mocno zbudowane plazmodium koloru kremowego. Takie wtórne i silnie rozbudowane plazmodium zajmuje cały prawie teren pożywki agarowej. Złoże drożdżowe jest w końcu całkowicie pożarte, a na jego miejscu tworzy się w agarze głęboki lej, sięgający zazwyczaj ścianki probówki (Ryc. 1). Po dziesięciu mniej więcej dniach plazmodia te potworzyły, we wszystkich kulturach, owocniki.

Do kilku innych kultur tej samej grupy wprowadziłem po porcji drożdży zabitych. Do każdego złoża drożdżowego podpełzły drobniutkie plazmodia i zjadały je z widoczną żarłocznością. W końcu, z drobnych i podkarmionych plazmodiów, powstało jedno silnie zbudowane plazmodium, pokrywające całą powierzchnię pożywki agarowej. Złoża aga-

rowe zostały silnie podkopane przez plazmodia i w końcu na ich miejscu potworzyły się w agarze wklęśnięcia, które jednakże są płytsze niż wklęśnięcia potworzone w obecności drożdży żywych. Plazmodia te, mimo ich silnego rozwoju, nie owocowały. Dowodziłoby to, że w trakcie zabijania komórek drożdżowych, podczas ich sterylizacji, został znisz-



Ryc. 1. Plazmodium *Physarum polycephalum* skupione dokoła otworu wydrążonego przez siebie w agarze po spożyciu złoża drożdżowego.

Plasmode de Physarum polycephalum autour de la caverne, creusée par lui à la place du dépôt de la levure.

czony jakiś czynnik, który w drożdżach żywych pobudza plazmodia do owocowania. Wprowadzenie do takich kultur z drożdżami zabitymi drożdży żywych doprowadziło plazmodia do wytworzenia normalnych owocników.

G r u p a B. Do założenia tej serii kultur użyłem zarodników pochodzących z zarodni wyhodowanych na podłożu agarowym z drożdżami żywymi. Do kultur tych wprowadziłem po porcji drożdży żywych. Po kilku dniach potworzyły się bardzo silne plazmodia, które w szybkim tempie zjadły złoża drożdżowe, tworząc na ich miejscu głębokie kawerny.

Najwyraźniej jednak dał się tu odzwierciedlić wpływ drożdży w ilości owocników, tworzących się w obu grupach kultur: w grupie A ilość ta nie przekracza z reguły 10—15 owocników w jednej kulturze, w grupie natomiast B wynosi od 20 do 25 owocników. Ponieważ podobne zjawisko potwierdziło się w wielokrotnie powtarzanych kulturach, należy przypuścić, że chodzi tu o zsumowane działanie drożdży na rozwój śluzowca w grupie B kultur.

Zsumowanie działania drożdży polega prawdopodobnie na tym, że: 1° zarodniki służące do założenia nowych kultur pochodzą z zarodni po-

wstałych na podłożu drożdżowym, więc są „zaprawione" przez substancje drożdżowe (biotyczne) i 2⁰ dodanie do kultur założonych z takich „zaprawionych" zarodników jeszcze po porcji drożdży, potęguje rozwój śluzowca.

V-a seria kultur

W tej serii kultur uwzględniłem ten sam gatunek — *Physarum polycephalum.* Zarodniki do założenia kultur pochodziły z kultury macierzystej, założonej jeszcze w roku 1947 (9.V.) na agarze czystym na wodzie. Do kultury tej dodawano w swoim czasie trzykrotnie czystych drożdży, co doprowadziło do utworzenia się owocników. Z tych właśnie czteroi pół-letnich owocników czerpałem potrzebny do wysiewu materiał. Jako podłoża do nowej tej serii kultur użyłem agaru czystego na wodzie dystylowanej i agaru na roztworze Knopa bez glukozy. We wszystkich kulturach, w miesiąc po zasianiu zarodników, pojawiły się drobne i anemiczne plazmodia; były one wyraźnie silniejsze na pożywce z Knopem niż na wodzie dystylowanej. Do owocowania, w ciągu następnego miesiąca (poczynając od momentu zaszczepienia zrodników) — w żadnej z tych kultur jednak nie doszło. Do części takich anemicznych i wygłodzonych kultur (20) wprowadziłem po porcji drożdży — co spowodowało ożywienie się drobnych plazmodiów i połączenie się ich w duże, pojedyncze plazmodia, łatwo dostrzegalne gołym okiem. W dwa tygodnie po dodaniu drożdży plazmodia we wszystkich kulturach wyowocowały, przy czym w kulturach na płynie Knopa utworzyło się dwa razy więcej owocników niż w kulturach na agarze na wodzie destylowanej. Knop, jak widać, pozytywnie działa na rozwój śluzowca. Poza tym charakter podłoża wpływa wyraźnie na strukturę wewnętrzną zarodni, a w szczególności na wielkość i kształt zarodników.

Na agarze z wodą destylowaną wszystkie zarodniki są zupełnie kuliste i jednakowej wielkości; przeciętnie ich średnica wynosi od 8 do 12 mikronów. Zarodniki otoczone są grubą błoną i cała powierzchnia pokryta jest delikatnymi igiełkami. (Rys. 2).

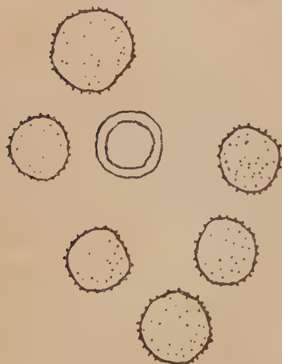
Na agarze z płynem Knopa zarodniki są różnej wielkości, mają formę poligonalną i zaopatrzone są w bardzo cienkie błony; średnica ich wynosi od 6 do 18 mikronów. (Rys. 3).

VI-a seria kultur

Do założenia tej serii kultur użyłem zarodników pochodzących z zarodni *Physarum polycephalum,* powstałych w roku 1947 na agarze z brzeczką słodową z dodaniem drożdży.

Nowe kultury zostały zaszczepione na agarze z bulionem z płatków owsianych. Na tym podłożu po 6-u tygodniach utworzyły się we wszyst-

kich kulturach silne plazmodia obok silnie rozwiniętych drożdży i bakterii. Komórki drożdżowe i bakterie zostały przeniesione wraz z zarodnikami przy zakładniu kultur. Widać z tego, że tak zarodniki śluzowca jak komórki drożdżowe i bakteryjne zachowały jeszcze po pięciu latach



Ryc. 2. Zarodniki śluzowca *Physarum polycephalum* z kultury na agarze z wodą destylowaną i z drożdżami. Zarodniki mierzą od 8 do 12 μ.

Spores du myxomycète Physarum polycephalum provenant de la culture sur gélose à l'eau distillée et additionnée de levure. Les spores mesurent de 8 à 12 μ.

swą pełną żywotnśoć. Przy tym zasługuje tu na uwagę fakt, że takie pięcioletnie zarodniki potrzebują conajmniej miesiąca czasu dla swego wykiełkowania, wtedy kiedy świeże zarodniki tego samego gatunku śluzowca kiełkują już po kilku lub kilkunastu godzinach.



Ryc. 3. Zarodniki śluzowca *Physarum polycephalum* z kultury na agarze z roztworem Knopa i z dłożdżami. Zarodniki mierzą od 6 do 18 μ.

Spores du myxomycète Physarum polycephalum provenant de la culture sur gélose à la solution de Knop, additionnée de levure. Les spores mesurent de 6 à 18 μ.

Pomimo pojawienia się, we wszystkich kulturach silnie rozbudowanych plazmodiów i obecności obfitej pożywki w formie drożdży i bakterii, owocowanie nie nastąpiło w ciągu następnych dwóch miesięcy. Dopiero po dodaniu po porcji drożdży świeżych, plazmodia wszystkich kultur wyowocowały.

Jak wynika z tego doświadczenia chodzi tu nie o samo pożywienie, którego plazmodia miały pod dostatkiem, a o jakiś czynnik stymulujący, który utraciły drożdże z roku 1947-go, a który został wprowadzony przez zaszczepienie świeżych drożdży.

Powstałe zarodnie i zarodniki w tych warunkach posiadją zupełnie normalną budowę.

VII- seria kultur

Do założenia tej serii kultur użyłem zarodników *Physarum polycephalum* ze świeżo powstałych zarodni na agarze z brzeczką słodową. Zarodniki zostały zaszczepione na agarze z pożywką Knopa z 10% roztworem glukozy i na agarze z pożywką Knopa bez glukozy.

Na podłożu z Knopem z glukozą pojawiły się po 10-u dniach we wszystkich kulturach silne plazmodia, które po dalszych 3-ch tygodniach obficie wyowocowały. Utworzyły się normalne zarodnie z zarodnikami normalnej wielkości i formy.

Na podłożu z Knopem bez glukozy pojawiły się liczne drobniutkie i anemiczne plazmodia, również po 10-u dniach od daty zaszczepienia. Po dalszych trzech tygodniach stan plazmodiów nie zmienił się absolutnie (wtedy, kiedy w tym samym czasie plazmodia na Knopie z glukozą wyowocowały). W żadnej kulturze nie doszło do utworzenia się pojedynczych silnych plazmodiów. Do części takich kultur dodałem po porcji drożdży. Drobne plazmodia zaczęły pełzać ku złożu drożdżowemu i atakować je z widoczną żarłocznością. Po tygodniu utworzyły się pojedyncze silne plazmodia, wgryzające się w złoża drożdżowe i w podłoże agarowe. Tak powstałe plazmodia, po dalszych dwóch tygodniach nie wyowocowały — były więc niedokarmione. Dopiero dodanie do każdej kultury po nowej porcji drożdży doprowadziło, po dalszych 10-u dniach do owocowania. W kulturach, które nie otrzymały drożdży, plazmodia zachowały pierwotny swój stan anemiczny i w końcu zamarły wraz z wyschnięciem pożywki.

W tej serii kultur uwydatnia się wyraźnie pozytywny wpływ glukozy na rozwój śluzowca oraz potwierdza się pozytywne działanie drożdży na rozwój tego samego śluzowca.

Równolegle do opisywanych wyżej kultur (makrokultur) zakładałem z zarodników tych samych trzech śluzowców mikrokultury na szkiełkach przedmiotowych według własnej metody, stosowanej z powodzeniem od dłuższego czasu w badaniach cytologicznych nad śluzowcami. Do mikrokultur tych użyłem, jako pożywki, rozcieńczonej brzeczki słodowej (1%).

Jednocześnie z zarodnikami śluzowców wprowadzałem do mikrokultur drożdże, mieszając dokładnie. w kropli odżywczego płynu igłą

platynową, obie kategorie komórek. Okazało się, że w tych warunkach zarodniki kiełkują daleko trudniej i wolniej niż w mikrokulturach kontrolnych, nie zawierających drożdży.

Drożdże zawierają prawdopodobnie jakiś czynnik hamujący sam proces kiełkowania zarodników, ale nie działający na wzrost i owocowanie plazmodiów. Wyjątek stanowiłoby *Didymium difforme*, którego cała ontogeneza odbywa się słabo w obecności drożdży.

Streszczenie wyników

1⁰ Badania prowadzone były na trzech gatunkach śluzowców: *Didymium nigripes* Fr., *Didymium difforme* Duby i *Physarum polycephalum* Schw.

Jako drożdży używano czystych drożdży piekarnianych — *Saccharomyces cerevisiae.*

2⁰ Śluzowce hodowano w probówkach o wymiarze 20 × 2 cm i w naczyniach płaskich Kolle, tzw. sojkach, na agarze czystym, na wodzie dystylowanej; na agarze z brzeczką słodową; na agarze z roztworem Knopa oraz na agarze z roztworem Knopa plus 10⁰/₀ roztwór glukozy.

3⁰ Drożdże dodawano do kultur śluzowców w stanie żywym i martwym w ściśle odmierzonej ilości, w postaci tzw. porcji; porcją w niniejszych doświadczeniach stanowi ilość drożdży, która daje się zaczerpnąć uszkiem igły platynowej o średnicy około 3 mm; ilość ta waży około 5 mg.

4⁰ Wiadomym jest, że śluzowce współżyją w środowisku naturalnym z bakteriami (symbioza). Ażeby badania nad wpływem drożdży wypadły jak najdokładniej — należało najpierw uwolnić śluzowce od bakterii. Ponieważ oddzielenie bakterii od śluzowca jest niemożliwe, ograniczono się jedynie do ich osłabienia przez prowadzenie hodowli tego ostatniego na pożywce powtórzonej lub na agarze płukanym na wodzie dystylowanej.

5⁰ Śluzowiec *Didymium nigripes*, hodowany na agarze czystym z wodą dystylowaną, tworzy jedynie drobne, anemiczne plazmodia, które nigdy nie owocują. Dodanie do takiej anemicznej kultury porcji drożdży ożywia ją: drobne plazmodia skupiają się dokoła złoża drożdżowego, intensywnie pożerają komórki drożdżowe i po kilku dniach łączą się w jedno silnie zbudowane plazmodium, dostrzegalne gołym okiem. Plazmodium takie, po spożyciu złoża drożdżowego (wraz z agarem), po kilku dalszych dniach owocuje. W wielu wypadkach owocowanie nie następuje, dopiero dodanie drugiej, a niekiedy trzeciej porcji drożdży prowadzi do owocowania. Owocniki powstałe w tych warunkach są zupełnie normalne.

6⁰ Śluzowiec *Didymium difforme* zachowuje się w tych samych warunkach zupełnie odmiennie. Drobne, anemiczne plazmodia, powstałe na agarze z wodą dystylowaną, słabo reagują na obecność wprowadzonych do kultury drożdży, nie ożywiają się i w słabym tylko stopniu pożerają komórki drożdżowe. Rzadko przeto dochodzi do powstania normalnych owocników, względnie cyst koloru kremowego. Widać wyraźnie, że śluzowiec ten nie lubi drożdży.

7⁰ Śluzowiec *Physarum polycephalum* zachowuje się w stosunku do drożdży podobnie jak *Didymium nigripes* z tą tylko różnicą, że jego plazmodia wydrążają w agarze głębokie kawerny w obecności złóż drożdżowych.

8⁰ Jeżeli głodówka drobnych, anemicznych plazmodiów trwa niedługo, np. kilka dni, wtedy odżywione drożdżami plamodia tworzą, z reguły, niewielką ilość owocników (2—5); jeżeli natomiast głodówka trwa dłużej, np. dwa miesiące wtedy odżywione plazmodium tworzy daleko większą ilość owocników (10—15), przy jednakowej ilości (porcyj) podanych drożdży.

9⁰ Zarodniki *Physarum polycephalum*, pochodzące ze starych, pięć lat liczących kultur, kiełkują o cały prawie miesiąc później od zarodników tego samego gatunku śluzowca ze świeżych kultur. W późniejszych jednak stadiach plazmodia, powstałe z takich starych zarodników, zachowują się w identyczny sposób jak plazmodia powstałe ze świeżych zarodników.

10⁰ Kultury założone z pięcioletnich zarodników śluzowca *Physarum polycephalum*, powstałych w zarodniach na podłożu z drożdżami, dają na agarze z bulionem z płatków owsianych obfite plazmodia oraz silny rozwój bakterii i drożdży. Pomimo silnego rozwoju tych ostatniach, plazmodia takie nie owocowały. Dopiero dodanie świeżych drożdży doprowadziło do procesu owocowania. Nie chodzi więc w tym wypadku o drożdże jako czynnik odżywczy, a o drożdże jako czynnik pobudzający do owocowania. Czynnik ten w starzejących się drożdżach ulega — jak wynika z doświadczenia — zanikowi.

11⁰ Śluzowiec *Physarum polycephalum*, hodowany na agarze z roztworem Knopa daje po dodaniu żywych drożdży, dwa razy więcej zarodni niż hodowany na agarze z wodą dystylowaną po dodaniu takich samych drożdży.

12⁰ Śluzowiec *Physarum polycephalum* hodowany na agarze z Knopem, zawierającym 10% roztwór glukozy daje pozytywne wyniki: tworzą się na tym podłożu silne plazmodia, które po kilku już dniach, i bez dodania drożdży owocują, tworząc normalne zarodnie. Natomiast na pożywce (agar) z czystym roztworem Knopa (bez glukozy) tworzą się drobniutkie, anemiczne plazmodia, które nigdy nie owocują; dopiero

dodanie do takich kultur świeżych drożdży doprowadza do silnego rozrostu plazmodiów i ich owocowania.

13⁰ Zarodniki śluzowców, pomieszane z komórkami drożdżowymi *(S. cerevisiae)*, kiełkują trudniej niż te same zarodniki w kulturach bez drożdży. Można się o tym przekonać zakładając dla jednego i drugiego wypadku mikrokultury.

RÉSUMÉ

Dans mes recherches sur l'influence de la levure *(Saccharomyces cerevisiae)* sur le développement des myxomycètes, j'ai opéré sur trois espèces de ces organismes: *Didymium nigripes* Fr., *Didymium difforme* Duby et *Physarum polycephalum* Schw., gardés, comme matériel de départ, en cultures pures mixtes.

Pour pouvoir étudier l'influence de la levure sur l'ontogénèse des myxomycètes il faut avant tout obténir leurs souches à l'état de pureté absolue. Les tentaives de la purification complète de myxomycètes faites par plusieurs biologistes, tels que A. L. Cohen (1, 2), M. Locquin (3), J. C. Sobels (8) et moi-même ont complétement échoué. Un passage tiré de l'excellent travail de J. C. Sobels, paru il y a 3 ans comme thèse de doctorat (8) en constitut la preuve. Voici le texte du passage intitulé: „Méthodes complémentaires de purification des plasmodes" a la page 84: „Pour éviter les nombreux repiquages sur gélosel avée inhérants à la méthode de purification habituellement employée et pour détruire les bactéries difficiles à éliminer, nous avons mis au point une technique nouvelle. Nous avons tout d'abord essayé sans succès trois méthodes dont la première consistait simplement à traiter la culture de plasmode par milieu de Raulin (69), en la recouvrant de cette solution. Le plasmode arrête de se développer, mais les bactéries restent vivantes. La seconde méthode, mettait en oeuvre le sulfamide 1162F, aux concentrations de $1 \cdot 10^{-3}$ et $1 \cdot 10^{-4}$. Ni plasmode ni les bactéries ne souffrent de la présence de ce produit. Un traitement de la culture de plasmode pendant 20 minutes avec de l'eau oxygénée à 6 ou 12 volumes[1], donne seulement une contraction du plasmode, qui reste vivant, les bacteries ne sont pas tuées. Si on fait agir l' H_2O_2 pendant un temps plus long que 20 minutes, seul le plasmode meurt. Nous avons enfin utilisé avec succès la méthode qui consiste à faire agir le mélange pénicilline (10 U. O.) — streptomycine (10 U. G.) dilué dans 10 cc d'eau bidistillée stérile. Après un contact de 24 heures, ce liquide est enlevé, et le plasmode est repiqué le jour suivant (Sobels (85)). Malgré l'efficacité

---

[1] Un volume d'eau oxygéné à 12 volumes par exemple, peut dégager 12 volumes d'oxygène.

de cette dernière méthode, il ne nous a pas encore été possible de conserver les quatre derniers plasmodes en cultures pur".

On voit d'après le passage cité que différentes méthodes tendant à la purification complète des plasmodes ont fait fiasco. Tout ce qu'on peut obtenir c'est uniquement l'affaiblissement extrème de bactéries et non pas leur complète supression; tuer la bactérie c'est tuer en même temps le plasmode. J'opère précisement dans mes recherches avec des plasmodes affaiblis, à la suite de l'affaiblissement de bactéries. J'arrive à ce fait par la double méthode: a) par la cultivation de myxomycètes sur le substratum répété[1], b) par leur cultivation sur le substratum maigre (la gélose bien lavée et fondue dans l'eau distilée).

Je montais pour chaque espèce de myxomycète plusieurs séries de cultures plusieurs fois répétées.

Les cultures furent gardées à la température de la chambre dont la moyenne était de 18°C.

La levure, provenant de cultures pures, fut administrée par „portion". Une „portion" dans mes expériences correspond, juste à la quantité que l'on racle avec une anse de platine, mesurant 3 millimètres de diamètre, et pesant à peu près 5 mg.

Dans la pratique courante je montais mes cultures sur le substratum maigre (gélose à la l'eau distillée), comme plus facile à obténir.

A. Les spores de *Didymium nigripes,* ensemencées sur la gélose à l'eau distillée (substratum maigre) germent normalement et au bout de 10 jours environ apparaissent de tout petits plasmode anémiques, à peine visibles à l'oeil nu. A une partie de ce cultures on introduit, a chacune, une portion de levure. Au bout de quelques jous les petits plasmodes, éparpillés jusqu'a présent sur toute la surface du substratum, se réunissent autour du dépôts de la levure. Très vite à la place de ces petits plasmodes apparaissent de grands plasmodes de couleur crême, visible facillement à l'oeil nu. On constate en même temps que la diminution sensible du dépôt de la levure est synchronisée avec la disparition de petits plasmodes et la formation d'un grand et unique plasmode. Ce dernier creuse autour du dépôt même de la levure une profonde caverne, allant qusqu'è la paroi de la culture. La collaboration enzymatique de la levure et du plasmode est ici bien démonstrative.

Un plasmode suffisamment nourri ne tarde pas, au bout de quelques jours, de fructifier. J'ai constaté mainte fois que dans certaines

---

[1] Le substratum répété c'est le substratum sur lequel a eu déjà lieu le développement complet d'un myxomycète. Un substratum parell (gélose au moût de bière) est refondu avec un peu d'eau distillée stérilisée; il contient des toxines bactériennes et les produits de désassimilation des plasmodes qui affaiblissent le développement de bactéries et n'empêchent pas le développement de plasmodes.

cultures, additionées d'une seule portion de levure, les plasmodes, bien épanouis, ne fructifient pas. Il suffit d'ajouter à une pareille culture une nouvelle portion de levure pour que le plasmode ne tarde pas à fructifier. Il faut donc admettre que le rythme de mûrissement du plasmode va de paire avec le rythme alimentaire: il suffit parfois d'ajouter une minime quantité de levure (p. ex. un quart d'une portion) pour que la maturation du plasmode soit achevée et que celui-ci aboutisse à la fructification. Dans la deuxième partie de cultures qui n'ont pas reçu de la levure les plasmodes gardent, pendant deux mois suivants, le même aspect c-à-d. ils restent tout petits, anémiques et ne fructifient jamais. Finalement, à la suite de ce jeûne prolongé (et à la suite de l'évaporation de l'eau d'autre part), ces plasmodes meurent. Mais il suffit d'introduir, à de telles cultures une portion le levure, pour que les plasmodes anémiques reprennent leur allure énergique, forment un grand plasmode qui fructifie au bout de quelques jours. Les fructifications dans les deux séries de cultures sont analogues et normales.

B. *Didymium difforme* se comporte, au cours de mêmes expériences, d'une façon tout à fait différente que les autres myxomycètes. Les petits plasmodes anémiques de ce myxomycète réagissent faiblement à la présence de la levure introduite, en mangent que très peu, finalement dégénèrent, sans former un grand et unique plasmode. Ce seulement dans un petit nombre de cultures qu'il se forme, par-ci par-là, de petites fructifications rondes ou des sclérotes de couleur crême.

C. *Physarum polycephalum* se comporte presque de la même manière que *Didymium nigripes*, avec néanmoins cette différence, que ses plasmodes, anémiques ou normaux, creusent dans le substratum des empreintes plus profondes que ceux de *Didymium nigripes*.

Une partie de cultures a reçu chacune, quelques jours après l'ensemencement des spores et apparition de petits plasmodes anémiques, une portion de levure (5 mg); ces cultures ont donné des fructifications normales, mais peu nombreuses (2—4 par culture).

La deuxième partie de cultures a reçu de la levure deux mois après l'ensemencement des spores. Après ce jeûne prolongé les résultats se sont montrés révélateurs: toutes les cultures dans lesquelles les plasmodes affamés se sont montrés très voraces, ont fourni un nombre de fructifications plus grand (10—15) que dans la première série de cultures. Le jeûne prolongé contribut donc à l'augmentation du nombre de fructifications.

D. Les spores de *Physarum plycephalum*, provenant de vieilles cultures (comptant 5 ans et demi) germent un mois environ plus tard que les spores fraiches, du même myxomycète. Les plasmodes, provenant de

pareilles spores sont néanmoin normaux et produisent des fructifications normales.

E. Les plasmodes de *Physarum polycephalum,* issus des spores agées de 5 ans et demi, formées dans les sporanges sur le substratum contenant de la levure vivante, prennent une bonne allure sur la gélose aux flocons d'avoine; a côté de plasmodes il y a un bon développement de bactéries et de la levure, ces dernières étant inoculées en même temps que les spores. Malgrès un bon développement des plasmodes ceux-ci ne fructifient pas; pour les obliger à fructifier il faut ajouter aux cultures de la levure fraîche. On voit d'après ce fait que les cellules de *Saccharomyces cerevisiae* agée de 5 ans et demi ont perdu leurs propriétés biotiques et stimulant la fructification; pour que celle-ci eu lieu il faut ajouter de la levure fraîche.

F. *Physarum polycephalum,* cultivé sur la gélose au Knop, donne, en présence de la levure vivante une quantité beaucoup plus grande de fructifications que sur la gélose à l'eau distillée (et en présence de la même quntité de la levure).

G. *Physarum polycephalum* cultivé sur la gélose au Knop additionné de glucose à 10⁰/₀, produit de forts plasmodes qui fructifient normalement. Cultivé sur la gélose au Knop sans glucose, ce même organisme forme de petits plasmodes anémiques qui ne frcutifient jamais; mais quand on ajout à ces derniers de la levure fraiche, les petits plasmodes grandissent et en se fusionnant forment un seul plasmode bien développé qui ne tarde pas à fructifier.

H. Les spores des myxomycètes, mélangées avec les cellules de *S. cerevisiae* vivantes, germent beaucoup plus difficilement que les spores montées en cultures sans levures. On peut s'en convaincre en faisant, pour les deux cas des microcultures.

Appendice

La liste de publications concernant la cytologie des myxomycètes fut allongée ces dernières années par deux excellents travaux parus dans les Comptes Rendus des Travaux du Laboratoire Carlsberg, Série chimique, Volume 20, N⁰ 5—6, Copenhague 1952: 1⁰ H. Holter and B. M. Pollock: Distribution of some enzymes in the Cytoplasm of the Myomycete, *Physarum polycephalum,* 2⁰ N. Andresen and B. M. Pollock: A Comparison between the cytoplasmic components in the Myxomycete, *Physarum polycephalum,* and in the Amoeba *Chaos Chaos.*

Dans ce second travail les auteurs, en parlant de vacuoles (p. 254), énumèrent, chez *Physarum polycephalum*, quatre différents types de vacuoles: Vacuoles contenant des masses d'aliments, vacuoles contenant

des débris non digérés, vacuoles contractiles et vacuoles vides mais non contractiles.

Un peu plus loin, dans le même passage (4, 32), à la page 255, ils écrivent que voici: „No attempt was made to distinguish between the different types of empty vacuoles by vital staining, since Mangenot (17) has shown the toxicity of vital dyes for the myxomycetes".

Il faut regretter que les auteurs, en abordant cette question, n'ont pas pris connaissance de mon article intitulé: „Sur la coloration vitale de *Didymium nigripes* (Fr.), imprimé en 1929 dans les „Acta Societatis Botanicorum Poloniae, Vol. VI, Nr. 3. Dans cet article je donne (à la page 207) l'énumeration des vacuoles dans les cellules des myxomycètes. que voici: a) *Vacuoles élémentaires* qui se colorent par le rouge neutre en rose pâle. J'ai pu discerner dans leur intérieur des corpuscules colorables en rouge intense, comme chez les champignons (corpuscules métachromatiques). Ces vacuoles reduisent légérement l'acide osmique; b) *Vacuoles pulsatiles.* Ces vacuoles ne prennent pas de colorants vitaux; c) *Vacuoles digestives.* Cette catérogie de vacuoles se colore le mieux; leur fond prend une teinte rose, tandis que les particules en voie de digestion (les débris nutritifs) se colorent en rouge intense.

Les premières vacuoles (élémentaires) correspondraient aux „Empty, non-contractile vacuoles" des auteurs précités.

Les secondes correspondraient aux „Contractile vacuoles".

Les troisièmes (digestives) correspondraient aux „Food vacuoles" ainsi qu'aux „Vacuoles with debris".

D'après moi la distinction entre les vacuoles digestives (Food vacuoles) et vacuoles contenant des debris d'aliments (Vacuoles with debris) est superflue: et les premiéres et les secondes sont les mêmes vacuoles digestives aux différents stade de leur fonctionnement.

Je considère que ma conception sur différents types de vacuoles est d'accord avec celle des auteurs mentionnés ci-dessus.

Si les vacuoles contractiles ne se colorent pas ce n'est pas par ce que le colorant vital (le rouge neutre) est toxique mais grâce à d'autres causes qu'il est difficile à dévoiler.

Les colorants vitaux, même leur mélange(le rouge neutre et le bleu de méthylène), additionnés aux cultures de *Didymium nigripes*, à la concentration 1 : 5000, n'ont aucune influence nuisible sur la marche normale du développement de ce myxomycète: depuis la germination des spores jusqu'à la formation des plasmodes et la fructification tout se passe comme dans les cultures sans colorants vitaux.

L'application du mélange des solutions du rouge neutre et du bleu de méthylène s'est montrée révélatrice. Grâce à cette méthode de la double coloration vitale j'ai réussi à ètablir, pour la première foi, un fait

capitale d'ordre morphogénétique dans l'ontogénèse des myxomycètes: la tête des sporanges provient de la masse protoplasmique interne du plasmode en fructification (coloration en rouge avec le rouge neutre) et le pied provient de la masse externe du même plasmode en fructification (coloration bleue foncée par le bleu de méthylène).

Cette méthode est très instructive et elle nous prouve que les colorants vitaux ,appliqués à la concentration convenable, ne nuisent en aucun degré aux différents éléments ontogénétiques d'un myxomycète.

PIŚMIENNICTWO — LITTÉRATURE

1. A. L. Cohen, 1939. Nutrition of the Myxomycetes. I. Pure culture and two-membered culture of Myxomycete plasmodia. Bot. Bazette, Vol. 101. No. 2.
2. A. L. Cohen, 1941. Nutrition of the Myxomycetes. II. Relations between plasmodia, bacteria and substrate in two-membered culture. Bot. Bazette, Vol. 103, No. 2.
3. M. Locquin, 1948. Culture des Myxomycètes et production de substances antibiotiques par ces organismes. C. R. Ac. Sc., Paris, T. 227, p. 149.
4. L. Mangenot, 1933. Sur les plasmodes de *Fuligo septica* Gmel., Comptes rendus des séances de la Société de Biologie, tome CXII, p. 1160.
5. F. X. Skupieński, 1920. Recherches sur le cycle evolutif de certains Myxomycètes, Thèse, Paris.
6. F. X. Skupieński, 1928. Badania bio-cytologiczne nad *Didymium difforme*. Część pierwsza. (Etude bio-cytologique sur *Didymium difforme*. Première partie). Acta Soc. Bot. Poloniae, Vol. V, Nr 3.
7. F. X. Skupieński, 1952. Influence de la levure (*Saccharomyces cerevisiae*) sur le développement des Myxomycètes. Bulletin de la Société des Sciences et des Lettres de Łódź, Classe III De Sciences Mathématiques et Naturelles, Vol. III, 8.
8. J. C. Sobels, 1950. Nutrition de quelques Myxomycètes en cultures pures et associées et leurs propriétés antibiotiques. Thèse de doctorat à l'Université d'Utrecht.

Badania cytologiczne i anatomiczne nad żyworodnymi formami z grupy *Festuca ovina* L.

Cytological and anatomical studies in viviparous biotypes of Festuca ovina L.

MARIA PIOTROWICZ

Z Zakładu Anatomii i Cytologii Roślin U. J.

(Wpłynęło dn. 1.X.53 r.)

WSTĘP

Tematem pracy niniejszej są studia nad występującą w Polsce żyworodną trawą *Festuca ovina* L. var. *vivipara*. Większość badaczy zalicza ją do var. *supina* w obrębie gatunku *Festuca ovina*, T u r e s s o n (1926) do var. *vulgaris*, S c h o l a n d e r (1934) zaś wyodrębnia ją jako osobny gatunek.

Praca miała na celu poznanie typów kariologicznych żyworodnej formy tego gatunku oraz ewentualnego związku pomiędzy typem kariologicznym a pewnymi szczegółami jego budowy anatomicznej; wyniki badań tych mogły też rzucić pewne światło na stanowisko systematyczne *Festuca ovina* L. var. *vivipara*, które nie jest dotychczas jednoznacznie określone.

Występowanie *Festuca ovina* L. var. *vivipara* jest związane z terenami górskimi. W Europie, według danych H a c k e l a (1882), W i l l k o m m a i L a n g e'g o (1870), A s c h e r s o n a (1892), K e l l e r a (1905), H e g i'e g o (1906), B e r g e r e t a (1909), S c h i n z a (1914), S a i n t-Y v e s (1913), H o w a r t h a (1925), M a g y a r a (1925), J a v o r k i (1921), S c h r o e t e r a (1926), T u r e s s o n a (1926-30-31), F l o v i k a (1938), T a n s l e y a (1939), L ö v e i L ö v e (1948) i D o s t á l a (1950), występuje ona w krajach skandynawskich, w Finlandii, Grenlandii, na Wyspach Brytyjskich, w Irlandii, na wyspach Faro oraz w górach Europy Środkowej. W Polsce, zgodnie z badaniami Z a p a ł o w i c z a (1906), P a w ł o w s k i e g o (1927), R a d w a ń s k i e j - K u l e s z y n y (1934), W a l a s a (1933), oraz moimi obserwacjami, występuje ona w Tatrach oraz posiada oderwane stanowisko na Babiej Górze. W Tatrach występuje ona

od 1450 m i jest rozpowszechnionia głównie w całym piętrze alpejskim, przy czym znacznie pospolitsza jest w ich części granitowej, niż w wapiennej.

MATERIAŁ I METODY

Materiał użyty do badań pochodził z 37 naturalnych stanowisk tatrzańskich oraz z 2 stanowisk na Babiej Górze.

Somatyczną liczbę chromosomów ustalono na mitozach w stożkach wzrostu korzeni. Materiał utrwalono utrwalaczami wodnymi wg. metody Navashina oraz jego modyfikacją wg. Delaunay'a. Różnic w działaniu obu utrwalaczy nie stwierdziłam. Skrawki o grubości 10 μ barwiono fioletem gencjanowym wg. Newtona. Rysunki wykonano przy pomocy aparatu Zeiss-Abbé, przy użyciu obiektywu imersyjnego Reicherta 100 × i okularu kompensacyjnego Zeissa 20 ×.

Liście przeznaczone do badań anatomicznych pochodzące z żywych okazów utrwalone były w alkoholu 70%; liście pochodzące z okazów zielnikowych były poprzednio rozgotowywane. Poprzeczne skrawki z dobrze rozwiniętych liści odziomkowych robione były zawsze w przybliżeniu na jednej wysokości liścia (1/2 — 1/3). Dzięki temu otrzymane preparaty anatomiczne stanowiły dobry materiał porównawczy. Stosowano metodę podwójnego barwienia karminem ałunowym i zielenią jodową w celu uzyskania kontrastowych obrazów rozmieszczenia tkanek. Rysunki wykonano aparatem Zeiss-Abbé, używając obiektywów Reicherta 10 × i 45 ×, okularu kompensacyjnego Zeissa 7 ×. Przy reprodukcji rysunki anatomiczne zostały zmniejszone. Powiększenie ich podane jest w objaśnieniu rycin.

ZESTAWIENIE STANOWISK BADANYCH OKAZÓW

Nr stan.	Stanowisko	liczba chrom.	wysokość w m npm.
25	*Babia Góra* (2 oddzielne stanowiska)	28	1350
	Tatry wapienne		
24	Droga na Czerwone Wierchy (2 oddzielne stanowiska)	28	1500
8	Karczmisko	28	1600
37	Karczmisko	28	1600
52	Stok Giewontu	28	1650
	Tatry granitowe		
9	Droga z Hali Gąsienicowej do Czarnego Stawu	28	1615
31	Czarny Staw	28	1620
4	Droga z Czarnego Stawu do Zmarzłego	28	1650
35	Droga z Zmarzłego na Zawrat	35	1700
44	Zmarzły Staw (2 oddzielne stanowiska)	35	1720
7	Droga na Zawrat (1/3 od Zmarzłego)	28	1900

6	Droga na Zawrat (2/3 od Zmarzłego)	35	2000
5	Szczyt Małego Koziego Wierchu	28	2220
27	Droga na Przełęcz Świnicką	35	1600
50	Droga z Kasprowego na Halę Gąsienicową	35	1970
43	Kasprowy Wierch	35	2000
41	Przy ścieżce na Świstówkę	35	1650
13	Dolina Pięciu Stawów (2 stanowiska)	35	1650
48	Ścieżka ze Świstówki do Morskiego Oka	35	1768
56	Szpiglasowa Przełęcz	28	2220
42	Droga ze Szpiglasowej Przełęczy do Pięciu Stawów	28	1900
19	Dolina Morskiego Oka	28	1450
1	Droga do Czarnego Stawu nad Morskim Okiem	35	1550
16	Czarny Staw nad Morskim Okiem strona zachodnia	35	1582
21	Czarny Staw nad Morskim Okiem, strona zachodnia	35	1585
17	Czarny Staw nad Morskim Okiem, strona zachodnia	28	1580
22	Czarny Staw nad Morskim Okiem, strona zachodnia	35	1582
20	Czarny Staw nad Morskim Okiem, strona wschodnia	35	1590
23	Czarny Staw nad Morskim Okiem, strona wschodnia	35	1595
49	Wejście do Doliny za Mnichem	28	2068
15	Droga na Przełęcz Pod Chłopkiem, poniżej Kazalnicy	28	1610
12	W połowie drogi między Kazalnicą a przełęczą pod Chłopkiem	35	2230
10	Przełęcz pod Chłopkiem	35	2270
11	Spod Chłopka stanowisko wyższe	35	2300

BADANIA CYTOLOGICZNE

Z dotychczasowych badań cytologicznych nad *Festuca ovina* L. var. *vivipara* prowadzonych przez Turessona (1930) 31) i Flovika (1938) wynika, iż gatunek ten wykazuje euploidalne wewnątrzgatunkowe zróżnicowanie kariologiczne. W obrębie tego gatunku Turesson znalazł w Skandynawii typy o liczbie chromosomów 2n = 21, 28, 42, Flovik zaś na Spitzbergen typ o 49 chromosomach. We wszystkich przypadkach stwierdzić się daje występowanie wielokrotnych podstawowej liczby 7.

W materiale polskim *Festuca ovina L.* var. *vivipara* stwierdziłam również zróżnicowanie poliploidalne. W materiale zbadanym występują dwa typy kariologiczne: tetraploidalny (2n = 28), znaleziony w 18 stanowiskach (ryc. 1a) oraz typ pentaploidalny (2n = 35) z 21 stanowisk (ryc. 1b). W tabeli zestawione są stanowiska badanych okazów. Typ tetraploidalny występuje na Babiej Górze, w Tatrach Wysokich oraz nielicznie w Tatrach Zachodnich. Typ pentaploidalny zaś znaleziony był wyłącznie w Tatrach Wysokich. Pierwszy z obu typów występuje w Skandynawii, natomiast drugi nie był dotychczas w ogóle notowany. Wobec znalezienia w toku niniejszych badań typu pentaploidalnego, szereg typów euploidalnych *Festuca ovina* L. var. *vivipara* staje się ciągły (2n = 21, 28, 35, 42, 49).



Ryc. 1. Metafazy somatyczne ze stożków wzrostu korzeni a) 2n = 28 b) 2n = 35. Powiększenie 2500 ×.

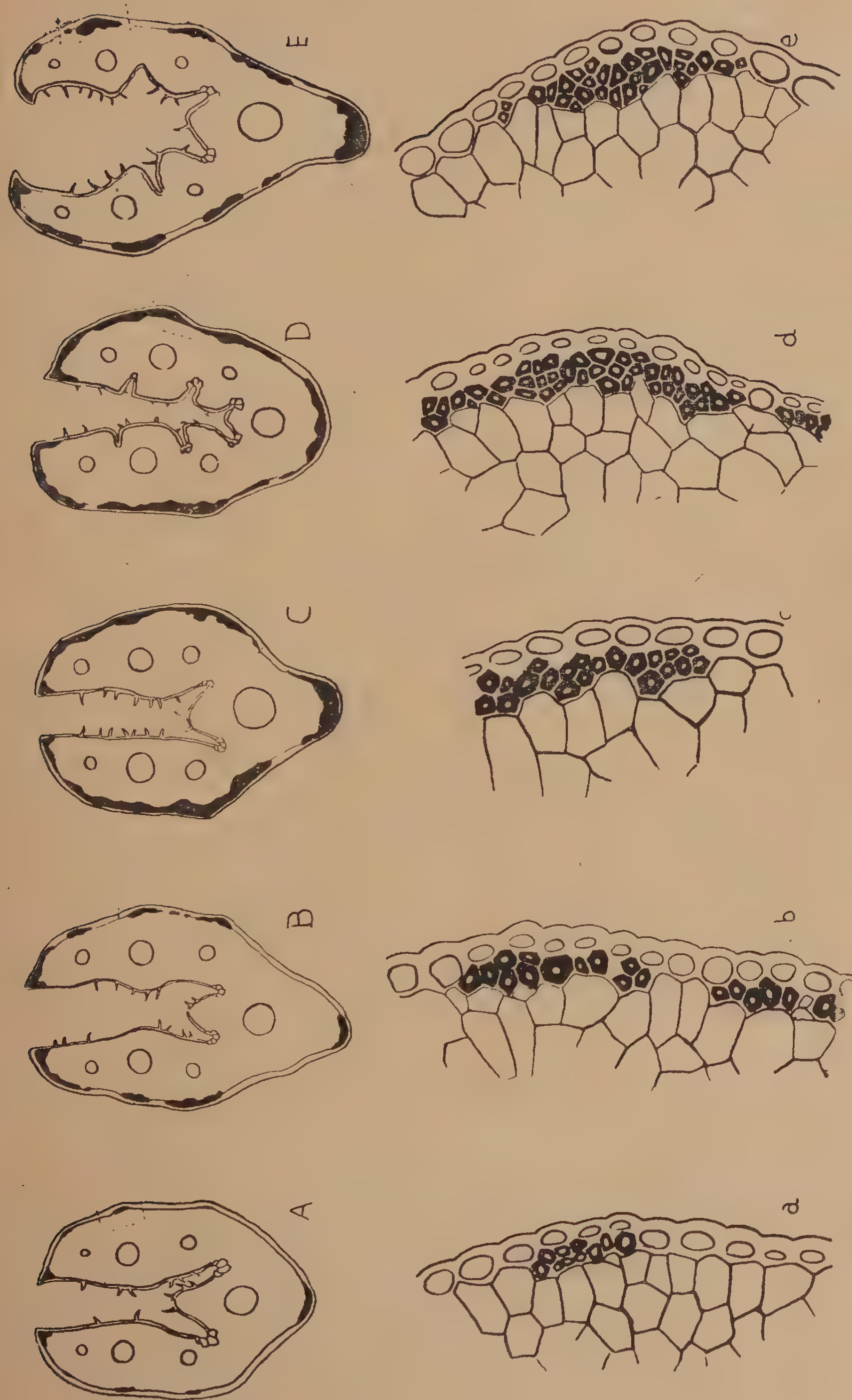
BADANIA ANATOMICZNE

Zjawisko przekształcania kwiatów w bulwki stanowiące narządy rozmnażania wegetatywnego uniemożliwia wykorzystanie u żyworodnych traw szczegółów budowy kwiatu dla badań systematycznych. Najważniejszymi cechami zatem, mającymi zastosowanie w systematyce żyworodnych traw, są: a) pokrój rośliny, b) budowa anatomiczna blaszki liściowej, c) szczegóły budowy pochwy.

Badacze współcześni (H o w a r t h 1925, T u r e s s o n 1926) pomijają uwzględniane poprzednio w badaniach systematycznych szczegóły budowy pochwy; twierdzą oni, że cecha ta często w obrębie tej samej odmiany, a nieraz i osobnika, wykazuje znaczne różnice. Według tych badaczy najważniejszą cechą diagnostyczną traw żyworodnych jest anatomia liścia, przy czym szczególną uwagę zwracają na zarys przekroju poprzecznego liścia, liczbę wiązek, ilość i rozmieszczenie sklerenchymy. Zgodnie z tym, w pracy niniejszej zwrócono specjalną uwagę na budowę anatomiczną blaszki liściowej.

Festuca ovina L. var. *vivipara* jako kserofit posiada charakterystyczną budowę liścia. Jak wiadomo, blaszka liściowa złożona jest wpół wzdłuż nerwu głównego. Szparki umieszczone są na górnej powierzchni liścia w wąskiej wnęce. Występowanie sklerenchymy ograniczone jest do partii subepidermalnej morfologicznie dolnej powierzchni liścia i do jednowarstwowej słabo wykształconej pochwy dookoła wiązek. Subepidermalna warstwa sklerenchymy wykształcona jest w postaci porozrywanego pierścienia, z maksymalnym zgrupowaniem elementów mechanicznych naprzeciw wiązek przewodzących. Z reguły występuje w liściu 7 wiązek; 3 duże (z tych największa na osi głównej) oraz 4 mniejsze.

Na podstawie przeprowadzonych badań anatomicznych stwierdziłam znaczne różnice w ilości i rozmieszczeniu tkanek mechanicznych



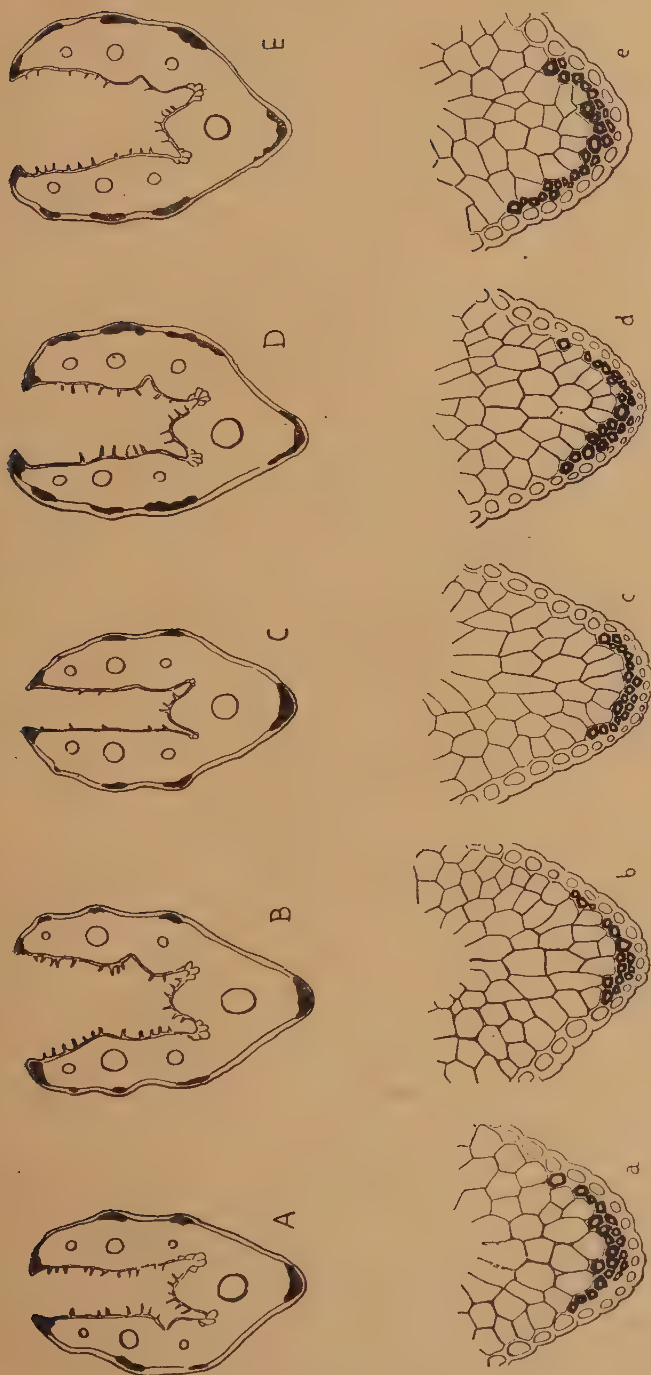
Ryc. 2. A—E przekroje poprzeczne liści różnych biotypów *Festuca ovina* L. var. *vivipara* (sklerenchyma oznaczona czarno). Powiększenie 40 ×. a—e fragmenty powyższych przekrojów uwidaczniające różnice w ilości i rozmieszczeniu sklerenchymy. Pow. 200 ×. Aa, Cc — typ 35 chromosomowy, Bb, Dd, Ee — typ 28 chromosomowy.

u różnych biotypów. Formy zgrupowania sklerenchymy dają się ułożyć w szereg ciągły (ryc. 2). Formy krańcowe stanowią biotypy, z których jeden charakteryzuje się bardzo małą ilością sklerenchymy zgrupowanej tylko naprzeciw wiązek wzdłuż brzegów blaszki liściowej (ryc. 2A, a), natomiast drugi reprezentuje biotyp o silnie rozwiniętej, prawie ciągłej warstwie elementów mechanicznych (C, c, D, d, E, e). Najczęściej reprezentowanym w badanym materiale jest typ pośredni przedstawiony na rycinie 2 B, b.

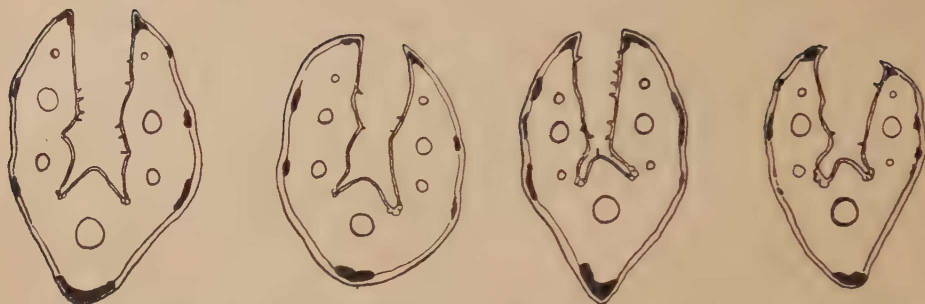
Różne biotypy *Festuca ovina* L. var. *vivipara* nie są również całkowicie jednolite odnośnie do kształtu liścia. Zarys przekroju może być bardziej wydłużony lub zaokrąglony. Morfologicznie górna powierzchnia blaszki liściowej może posiadać w obrębie wnęki 2, 4 lub 6 fałdów różnej głębokości (ryc. 2).

Poszczególne formy liści przedstawione na fig. 2A. a. B.b. C.c, D,d reprezentowane są zarówno przez biotypy tetra jak i pentaploidów. Jedynie forma o nieco szerszych liściach spotykana była w badanym materiale wyłącznie u tetraploidów z oderwanego stanowiska w drodze na Czerwone Wierchy.

Obserwowane rozbieżności w budowie anatomicznej poszczególnych biotypów wydają się być różnicami stałymi. Dowodzi tego porównanie przekrojów liści pochodzących z tych samych roślin z pięciu kolejnych sezonów wegetacyjnych. Przekrój z pierwszego roku pochodził z roślin z naturalnych stanowisk w Tatrach, następne zaś z tych samych roślin hodowanych na polu doświadczalnym Zakładu Anatomii i Cytologii Roślin U. J. w Krakowie. Porównanie tych przekrojów (ryc. 3) pozwoliło stwierdzić, że nie zaszły żadne zmiany w kształtach i budowie anatomicznej liści, szczególnie w ilości i rozmieszczeniu sklerenchymy. Nieznaczne wahania obserwowane w kolejnych sezonach wegetacji były przypuszczalnie wywołane różnicami w warunkach zewnętrznych (różnice temperatur, opadów, nasłonecznienia itp.). Podobnie też budowa różnych liści jednego osobnika z jednego sezonu wegetacyjnego nie wykazuje różnic wychodzących poza ramy zmienności modyfikacyjnej. Ryc. 4 ilustruje największe nasilenie tej zmienności zaobserwowane w badanym materiale. Jak nadmieniłam poprzednio zaobserwowane znaczne różnice w budowie morfologicznej i anatomicznej blaszki liściowej różnych biotypów *Festuca ovina* L. var. *vivipara* występują zarówno wśród typów tetraploidalnych jak i pentaploidalnych; różnice te nie dają się powiązać z określonym typem kariologicznym, co w konsekwencji uniemożliwia rozróżnienie typów kariologicznych na podstawie kryteriów anatomiczno-morfologicznych.



Ryc. 3. A—E zestawienie przekrojów poprzecznych liści jednego osobnika z pięciu kolejnych sezonów wegetacyjnych. Pow. 40 ×. a—e fragmenty powyższych przekrojów z części naprzeciw nerwu głównego. Pow. 133 ×. Typ 28 chrom. Nr. stanowiska 8. A, a — r. 1947; B, b — r. 1948; C, c — r. 1949; D, d — r. 1950; E, e — r. 1951.



Ryc 4. Zmienność liści jednego biotypu w jednym sezonie wegetacyjnym. (r. 1948) Typ 35 chrom. Nr stanowiska 6. Pow. 40 ×.

DYSKUSJA

Badania cytologiczne przeprowadzone na żyworodnych formach *Festuca ovina L.* var. *vivipara* wykazały istnienie zróżnicowania poliploidalnego. Prace T u r e s s o n a (1930, 31) nad okazami pochodzącymi ze Skandynawii, wysp Faro, oraz Szkocji stwierdziły występowanie typów triploidalnych (2n = 21), tetraploidalnych (2n = 28) oraz heksaploidalnych (2n = 42). F l o v i k (1938) znalazł na Szpitzbergu formę o liczbie chromosomów 2n = 49.

W toku niniejszych badań w materiale polskim stwierdzono występowanie jednego spośród wyżej wymienionych typów, tetraploidalnego; nadto znaleziony został nienotowany uprzednio typ pentaploidalny (2n = 35). Zgodnie z powyższymi wynikami żyworodne formy *Festuca* wykazują euploidalne liczby chromosomów w przeciwieństwie do *Poa alpina,* której formy żyworodne i nieżyworodne apomikty wykazują bardzo bogate zróżnicowanie aneuploidalne (M ü n t z i n g 1933, 1940, F l o v i k 1938, S k a l i ń s k a 1950, 51, N y g r e n 1950). W pracy swej T u r e s s o n podkreślił zależność między wyższym stopniem poliploidalności a pokrojem i bujnością roślin, oraz sposobem ich rozmnażania. Typy diploidalne znalezione przez niego w Skandynawii rozmnażają się wyłącznie drogą płciową. W obrębie typów triploidalnego i tetraploidalnego dają się już obserwować formy częściowo żyworodne zaliczane przez T u r e s s o n a do t.zw. amfi-apomiktów. Natomiast typ heksaploidalny rozmnaża się wyłącznie przez bulwki. Należy podkreślić, że oba występujące w Polsce żyworodne typy rozmnażają się wyłącznie apomiktycznie. Zgodnie z moimi obserwacjami redukcja kwiatków w wiechach u typu pentaploidalnego jest całkowita, natomiast u typów 28-chromosomowych daje się obserwować w bardzo rzadkich przypadkach wykształcenie pręcików.

Na materiale polskim nie udało mi się stwierdzić podkreślanego przez T u r e s s o n a związku między stopniem poliploidalności a po-

krojem i bujnością roślin. Obserwacje przeprowadzone w terenie nie pozwalają zupełnie na odróżnienie form tetraploidalnych od pentaploidalnych na podstawie bujności roślin. Natomiast hodowla na polu doświadczalnym Zakładu Anatomii i Cytologii Roślin U. J. wykazała wbrew oczekiwaniom większą bujność biotypów tetraploidalnych niż pentaploidalnych. Być może, że zjawisko to związane jest ze ściślejszym dopasowaniem typu pentaploidalnego do stanowisk wysokogórskich, co pociąga za sobą trudniejszą jego aklimatyzację po przeniesieniu z naturalnego środowiska na pole doświadczalne.

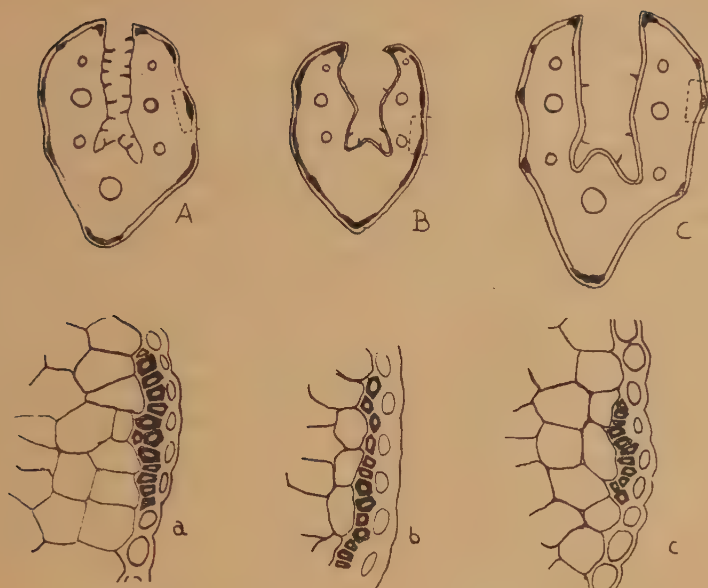


Ryc. 5. Wiechy *Festuca ovina* L. var. *vivipara*. Od strony lewej do prawej 3 wiechy tetraploidów (Nr 8, 24, 25), 3 wiechy pentaploidów (Nr 1, 4, 4). 1/3 wielkości nat.

Oznaczenie przynależności gatunkowej jest o wiele trudniejsze dla form żyworodnych *Festuca* niż dla form płciowych. Ze względu na redukcję kwiatów zachodzącą w związku z uwstecznieniem płciowości odpadają ważne cechy systematyczne jak długość i ilość pręcików, kształt i wielkość plew, plewek itp. Określenie systematyczne form żyworodnych musi być zatem oparte tylko na cechach wegetatywnych, z których najważniejszymi są szczegóły dotyczące budowy anatomicznej liścia. Stąd też istnieje znaczna rozbieżność w poglądach różnych badaczy na przynależność systematyczną żyworodnych form *Festuca ovina*. Większość badaczy zalicza *Festuca ovina* L. var. *vivipara* do var. *supina* Schur. Brytyjską formę *Festuca ovina* wykazującą stałą żyworodność zalicza Howarth do var. *supina* Schur. Zaznacza jednak, że żyworodność może występować sporadycznie również u *Festuca ovina* var. *capitala* Lam., *Festuca ovina* var. *vulgaris, Festuca ovina* var. *longifolia*. Występująca w Skandynawii i Szkocji *Festuca ovina* L. var. *vivipara* jest zaliczana przez Turessona do var. *vulgaris* (1926). Natomiast Scholander (1934) proponuje wyodrębnić ją jako oddzielny gatunek.

Opinie polskich badaczy, odnośnie do materiału naszego, są dość zgodne w zaliczeniu żyworodnej formy *F. ovina* do var. *supina.* Radwańska-Kuleszyna (1934) zwróciła jednak słusznie uwagę, że szczegóły budowy anatomicznej blaszki liściowej nie odpowiadają typowej budowie *Festuca ovina* L. var. *supina* Schur. Niemniej zaliczenie jej do *Festuca sulcata,* jak to czyni Radwańska-Kuleszyna, jest nie do przyjęcia, zarówno ze względu na budowę anatomiczną liścia, jak i na fakt, że var. *sulcata* nie występuje zupełnie w Tatrach.

Zbadanie licznych okazów tatrzańskich pozwoliło mi stwierdzić w obrębie *Festuca ovina* L. var. *vivipara* istnienie szeregu typów przedstawiających mniejsze lub większe odchylenia od typowej budowy anatomicznej nieżyworodnej formy var. *supina.* Poszczególne biotypy przedstawiają zatem niejednolitą grupę. Z tego względu interesującym było zbadanie szczegółów budowy liści okazów z północnego centrum geograficznego występowania *Festuca ovina* L. var. *vivipara* i porównanie ich z roślinami z Polski. Badania te zostały wykonane na okazach żyworodnych kostrzew skandynawskich i grenlandzkich z zielnika Instytutu Botanicznego U. J. Okazy z Norwegii i z Grenlandii charakteryzują się porozrywanym pasem sklerenchymy. Przekroje poprzeczne przez liście *Festuca ovina* L. var. *vivipara* z Norwegii (okazy z zielnika Instytutu Botanicznego U. J.: Herbarium Scandinavicum *F. ovina* L. *supina* Schur. v. *vivipara.* Flora Norvegica: Douvre Jerkin; *F. ovina* L. v. *vivipara* Jemtiae leg. C. Lagerheim et G. Sjörgen; Nuljalaki leg. L. Forelius) przedstawiają formy mieszczące się w obrębie typów tatrzańskich (ryc. 6 B, C). Okazy z Grenlandii (Uniersitets Botaniska Museum Kobenhavn *F. ovina* *vivipara* L. Graenlandia 60⁰ — 72⁰ prope Friederiehstahl leg. J. Vohl) zbliżają się do typu tatrzańskiego o najmniejszej ilości sklerenchymy (ryc. 6 A). W przeciwieństwie do form tatrzańskich, nie zauważono u okazów skandynawskich i grenlandzkich występowania komórek olbrzymich. Natomiast porównanie polskich *Festuca ovina* L. var. *vivipara* z formami występującymi w Wielkiej Brytanii, wobec braku okazów zielnikowych, możliwe było jedynie na podstawie rycin i danych zawartych w publikacji Howartha z 1925 roku; nastręcza ono jednak pewne wątpliwości. Howarth podkreśla, że *Festuca ovina* L. var. *vivipara* charakteryzuje się nieprzerwanym pasem sklerenchymy pod epidermis i na tej podstawie wyciąga wnioski odnośnie do przynależności systematycznej *Festuca ovina* L. var. *vivipara* do *Festuca ovina* var. *supina.* Z krytyką tego poglądu wystąpił Turesson (1926), podkreślając, że *Festuca ovina* var. *supina* nie obejmuje swym zasięgiem Wielkiej Brytanii. Jest on zdania, że ani żyworodne formy skandynawskie ani brytyjskie, nie mogą być zaliczane do *Festuca ovina* var. *supina,* z wyjątkiem sporadycznie żyworodnych var. *capillata*



Ryc. 6. Przekroje poprzeczne liści *Festuca ovina* L. var. *vivipara* z okazów zielnikowych pochodzących: A, a — z Grenlandii; B, b — z Jemtland; C, c — z Norwegii. Pow. A—C 40 ×. a—c 200 ×.

i *duriuscula*. Pewne zastrzeżenia budzą też ryciny z publikacji H o w a r t h a. Wielkość przekroju, kształt, wygląd, rozłożenie sklerenchymy, nasuwa przypuszczenie, że przekroje były zbyt grube lub robione z okazów zielnikowych niedostatecznie rozmoczonych lub rozgotowanych, względnie z liści za młodych, albo też z górnej części blaszki liściowej; tego rodzaju obrazy otrzymywałam również w toku pracy, lecz po nieodpowiednim potraktowaniu materiału.

Hipotezę mieszańcowego pochodzenia wysunął T u r e s s o n (1931), a następnie F l o v i k (1938). F l o v i k na podstawie badań cytologicznych zdołał zidentyfikować u tetraploidalnej *Festuca ovina* L. var. *vivipara,* w obrębie czterech kompleksów, trzy chromosomy charakterystyczne dla *Festuca rubra* var. *arenaria* (t.zw. chromosom G), czwarty chromosom homologiczny nieidentyczny z nim przedstawia przypuszczalnie typ występujący u seksualnej formy *Festuca ovina.* Na tej podstawie przypuszcza on, że 28-chromosomowa *Festuca ovina* L. var. *vivipara* przedstawia produkt krzyżowania między 42-chromosomową *Festuca rubra* var. *arenaria* a 14-chromosomową *Festuca ovina;* typ 21-chromosomowy mógłby według autora powstać w wyniku skrzyżowania tego mieszańca z 14-chromosomową *Festuca ovina.* Zgodnie z tym, znany dotych-

czas jedynie z Polski pentaploidalny typ mógłby zawdzięczać swe powstanie wtórnemu krzyżowaniu tetraploida z domniemaną formą rodzicielską o wyższej liczbie chromosomów (*F. rubra* 2n = 42). Na korzyść hipotezy mieszańcowego pochodzenia przemawiają szczegóły zasięgu form rodzicielskich na terenie Skandynawii, jak również stwierdzona doświadczalnie (J e n k i n 1934) możliwość tego rodzaju krzyżówek. Zaobserwonana przeze mnie niejednolitość budowy morfologicznej i anatomicznej liści różnych polskich biotypów również nasuwa przypuszczenie mieszańcowego pochodzenia *Festuca ovina* L. var. *vivipara*. Pewne biotypy wykazują znaczne podobieństwo do var. *supina*, inne zaś różnią się od niej dość znacznie, ujawniając pewne szczegóły budowy właściwe *F. rubra*. Przypuszczenie mieszańcowego pochodzenia form żyworodnych powinno zatem być brane pod uwagę w dalszych badaniach nad pochodzeniem oraz przynależnością gatunkową *Festuca ovina* L. var. *vivipara*.

STRESZCZENIE

Badania cytologiczne nad *Festuca ovina* L. var. *vivipara* z 37 stanowisk tatrzańskich i 2 z Babiej Góry doprowadziły do wykrycia dwóch typów kariologicznych: 28 chromosomowego występującego na Babiej Górze, w Tatrach Zachodnich i Wysokich (z 18 stanowisk), oraz 35 chromosomowego znalezionego wyłącznie w Tatrach Granitowych (z 21 stanowisk). Obecność typu tetraploidalnego w Skandynawii stwierdzona została poprzednio przez T u r e s s o n a (1930), natomiast typ pentaploidalny nie był dotychczas notowany.

Liście rozmaitych tatrzańskich biotypów *Festuca ovina* L. var. *vivipara* wykazują różnice morfologiczne i anatomiczne dotyczące kształtu uwidaczniającego się wyraźnie w zarysie przekroju poprzecznego, oraz w ilości i rozmieszczeniu sklerenchymy. Zarys przekroju może być wydłużony lub zaokrąglony. Morfologicznie górna powierzchnia blaszki liściowej może posiadać w obrębie wnęki 2, 4, 6 fałdów. Typy o bardzo małej ilości sklerenchymy zgrupowanej tylko naprzeciw wiązek i wzdłuż blaszki liściowej powiązane są z typami o silnie rozwiniętej prawie ciągłej warstwie elementów mechanicznych przez szereg form pośrednich. Obserwowane zróżnicowanie nie przedstawia modyfikacji środowiskowych; dowodzi tego fakt zachowania ogólnego typu w zmienionych warunkach zewnętrznych.

Przeprowadzone przeze mnie badania anatomiczne nad okazami zielnikowymi ze Skandynawii i Grenlandii pozwoliły stwierdzić istnienie na północy typów odpowiadających budową liścia pewnym formom tatrzańskim.

Przynależność systematyczna *Festuca ovina* L. var. *vivipara* jest dotąd zagadnieniem otwartym. Większość systematyków (H a c k e l, A s c h e r s o n, H o w a r t h, H e g i, P a w ł o w s k i) zalicza ją do *Festuca ovina* L. var. *supina*, natomiast według T u r e s s o n a (1926) należy ona do *Festuca ovina* L. var. *vulgaris*. F l o v i k (1938) na podstawie swych badań cytologicznych przypuszcza, że *Festuca ovina* L. var. *vivipara* powstała z krzyżowania *Festuca rubra* var. *arenaria* z *Festuca ovina* nieżyworodną. Badania niniejsze wykazały znaczną niejednolitość. Pewne biotypy wykazują budową liścia znaczne podobieństwo do var. *supina*, inne zaś ujawniają pewne szczegóły budowy właściwe *F. rubra*. Przypuszczenie mieszańcowego pochodzenia form żyworodnych powinno zatem być brane pod uwagę w dalszych badaniach nad pochodzeniem oraz przynależnością gatunkową *Festuca ovina* L. var. *vivipara*.

Praca została wykonana w Zakładzie Anatomii i Cytologii Roślin U. J. w latach 1948 — 1950. Pani Profesor Dr M. S k a l i ń s k i e j, Kierownikowi Zakładu, składam gorące podziękowanie za pokierowanie tokiem mej pracy oraz za cenne rady i wskazówki. Dziękuję również Profesorowi B. P a w ł o w s k i e m u za informacje systematyczne oraz Profesorowi Wł. S z a f e r o w i i Dr K. K o s t r a k i e w i c z o w i za udostępnienie mi materiałów zielnikowych Instytutu Botanicznego U. J. i Dr A. B a j e r o w i za wykonanie fotografii. Badania terenowe wykonane były z zasiłku Komitetu dla Badań Fizjograficznych P.A.U.

SUMMARY

The material for this study originated from 37 natural habitats in the Tatra Mts and 2 habitats in the Western Carpathians (Babia Góra). The investigations have revealed some degree of polyploid differentiation in the viviparous biotypes of *Festuca ovina;* two karyological types have been found: the tetraploid type (2n = 28) widely spread in the High Tatra and occurring also in some habitats in the Western Tatra and on slopes of Babia Góra, as well as the pentaploid type (2n = 35) confined to the High Tatra. The latter type has not been found previously in other regions. According to T u r e s s o n (1930, 1931) and F l o v i k (1938) four types (with 21, 28, 42 and 49 somatic chromosomes) occur in the northern centre of distribution of *Festuca ovina* var. *vivipara*. (Scandinavia, the Faeroes and Spitzbergen).

The various biotypes from the Tatra Mts show a high degree of diversity in the morphological and anatomical structure of the leaves; they concern the shape of the leaf (studied on transversal sections) as well as the quantity and distribution of the mechanical tissues. The outline of the transversal section may be rounded or more or less elongated.

The upper surface enclosed in a long narrow cavity may bear 2, 4 or 6 foldings. The mechanical tissues at the lower surface of the leaf may be limited to small groups of sclerenchyma along the vascular bundles and the margins; alternatively, they may be strongly developed forming an almost continuous layer; the extremes being connected by a series of intergrading forms. The observed differences are not due to the influence of the various habitats since they are maintained in plants transplanted into approximately uniform conditions. It should be added that this wide range of forms was found within each of the two karyological types, thus, details of the morphological and anatomical structure of the leaves cannot be used for the identification of the chromosomic types.

The structure of the leaves of the Polish biotypes was compared with that of the representatives of viviparous strains of *F. ovina* from the northern centre of its distribution. Studies of herbarium specimens from Scandinavia and Greenland have shown a leaf structure corresponding to that of some biotypes from the Tatra Mts.

Most taxonomists (Hackel, Ascherson, Howarth, Hegi, Pawłowski) assign *Festuca ovina* var. *vivipara* to var. *supina,* whereas according to Turesson (1926) it belongs to var. *vulgaris.* On the other hand Flovik (1938) assumes on the basis of his cytological investigations that the viviparous biotypes of *F. ovina* could have arisen from crosses of *F. rubra* var. *arenaria* with a non-viviparous form of *F. ovina.* According to the results obtained from the study of biotypes from the Tatra Mts, some forms within the wide range manifest a distinct similarity to var. *supina* with regard to leaf structure while other forms show some details found in the structure of *F. rubra.* Thus the assumption of hybrid origin of the viviparous forms should be taken into consideration in further studies dealing with the origin and taxonomical position of *F. ovina* var. *vivipara.*

The present study was carried out in the Institute of Plant Anatomy and Cytology of the University of Kraków. The author expresses her deep gratitude to Professor M. Skalińska, Head of the Institute for her guidance and valuable advice during the course of the work.

LITERATURA

Ascherson P. u. Graebner P., 1890—1902. Synopsis der Mitteleuropäischen Flora, Leipzig II/1, 465—480.

Avdulow N. P., 1931. Karyo-systematische Untersuchung der Familie *Gramineen,* Leningrad.

Czarnocki J. 1950. Klucz do oznaczania traw, Warszawa.

Dostál J. 1950. Kvetena CSR a ilustrowany Klie Kurceni vsech cernatych rostlin, Praha.

Flovik K., 1938. Cytological Studies of Arctic *Grasses*. Hereditas, 24, 265—376.
Hackel E., 1882. Monographia *Festucarum* europaearum. Berlin.
Hegi G. 1906. Illustrierte Flora von Mittel-Europa. München, B. I.
Howarth W. O., 1925. The occurrence and distribution of *Festuca ovina* L. sensu amplis, in Britain. Journ. Linn. Soc. Botany, 47, 29—39.
Jenkin T. J., 1934 Interspecific and intergeneric hybrids in Herbage *grasses*. Initial Crosses. Journ. of. Genetics, 28, 205—264.
Kozłowska A., 1925. Zmienność kostrzewy owczej w związku z sukcesją zespołów stepowych na Wyżynie Małopolskiej. Spraw. Kom. Fizjogr. P.A.U. Kraków, 60, 325—377.
Löve A. i Löve D.,1948. Chromosome numbers of northern Plants species. Reports of the Department of Agriculture, University Institute of Applied Sciences, Ser. B. Nr. 3, Reykjavik.
Müntzing A. 1933. Apomictic and sexual seed formation in *Poa*. Hereditas, 17, 131—154.
Müntzing A., 1940. Further Studies on apomixis and sexuality in *Poa*. Hereditas, 26, 115—190.
Müntzing A, 1949. Accessory chrosomomes in *Secale* and *Poa*. Proc. 8th Int. Congr. of Gen. (Hereditas, Suppl. Vol.) 402—411.
Nygren A., 1950. Cytological and embryological studies in arctic Poae. Symbolae Botan. Upsalienses 10.4, 1—64.
Pawłowski B., Sokołowski M. i Wallisch K., 1927. Die Pflanzenassoziationen des Tatra-Gebirges. Bull. Acad. Pol. Sc. Ser B. Suppl. II., 205—272.
Radwańska-Kuleszyna Z.,1934. Badania nad żyworodnością roślin na terenie Polski. Acta Soc. Bot. Polon. Suppl. 11, 401—432.
Saint-Yves, 1913. Les Festuca de la section *Eu-Festuca* et leurs variations dans les Alpes Maritimes. Ann. Conserv. et Jard. Bot. Genève.
Skalińska M., 1949—1950. Studies in chromosome numbers of Polish Angiosperms. Acta Soc. Botan. Polon., 22, 45—68.
Skalińska M., 1951. Cyto-ecological studies in *Poa alpina* L. var. *vivipara* L. Bull. Acad. Pol. d. Sc. Seria B., 253—283.
Sandor-Javorska. 1925. Magyar Flora (Flora Hungarica), p. 98. Budapeszt.
Schinz H., 1914. Flora der Schweiz, Zurich.
Schroeter C., 1926. Das Pflanzenleben der Alpen, eine Schilderung der Hochgebirgsflora. Zurich.
Stählin A., 1929. Morphologische und zytologische Untersuchungen an *Gramineen*. Wiss. Arch. f. Landwirtsch., 1, 330—398.
Sulma T., 1927. Problem ras geograficznych w świecie roślin na tle badań cytologicznych. Kosmos, Ser. B. 227—320.
Szafer W., Kulczyński S., Pawłowski B., 1919. Flora polska I, Kraków.
Tansley A. G., 1939. The British Islands and their vegetation. Cambridge.
Turesson G.,1926. Studien über *Festuca ovina* L. I. Hereditas 8, 161—206.
Turesson G., 1930. Studien über *Festuca ovina* L. II. Chromosomenzahl und viviparie. Hereditas 13, 177—184.

Turesson G., 1931. Studien über *Festuca ovina* L. III. Weitere Beiträge zur Kenntnis der Chromosomenzahlen viviparen Formen. Hereditas 15, 13—16.

Turesson G., 1927. Contributions to the gen-ecology of glacial relics. Hereditas 9, 81—101.

Walas J., 1933. Roślinność Babiej Góry. Państw. Rada Ochr. Przyr. Monografie naukowe 2, Warszawa.

Willkomm M., Langer J., 1870. Conspectus Florae Hispanicae, 1, Stuttgartiae.

Zapałowicz H, 1906. Krytyczny przegląd roślinności Galicji. Kraków.

Powstawanie komórek dwujądrowych drogą amitotyczną i mitotyczną u *Lupinus albus* L. i *Lupinus luteus* L.

Formation amitotique et mitotique des cellules binucléaires chez Lupinus albus L. et Lupinus luteus L.

MARIA JOANNA OLSZEWSKA
Z Zakładu Anatomii i Cytologii Roślin Uniwersytetu Łódzkiego

(Wpłynęło, dn. 9.X.53 r.)

WSTĘP

Amitozy u roślin wyższych opisywano wielokrotnie jako reakcję na podrażnienie i działanie niektórych związków chemicznych (eter, wodzian chloralu). Nie cytuję tych obserwacji, ponieważ zjawiska, które opiszę poniżej, zachodzą w tkankach roślin nie poddawanych tego rodzaju czynnikom.

Küster (1951) traktuje amitozy u roślin wyższych jako wyraz degeneracji i patologii komórki. Podkreśla on, że przy prawdziwej amitozie wykluczony jest równomierny podział masy jądra macierzystego na dwa potomne. Küster odmawia więc amitozie znaczenia w normalnym rozmnażaniu komórek roślin wyższych. Takie mniemanie w świetle najnowszych badań nie jest słuszne.

Ellenhorn, Głuszczenko i Afanasjewa (1951) stwierdzili, że rozmnażanie się jąder i komórek może następować na drodze amitotycznej i nie tylko w przypadkach patologicznych i degeneracyjnych.

Flint i Moreland (1946) znaleźli amitozy zachodzące przy tworzeniu się komórek szparkowych u trzciny cukrowej. Ellenhorn, Głuszczenko i Afanasjewa (1951) ogłosili pracę o niemitotycznych podziałach jąder w ogonku liściowym normalnie rosnącego osobnika *Hedera helix*. Stwierdzili oni rozmnażanie się jąder przez przewężenie, a więc amitozy oraz przez powstawanie jąder potomnych wewnątrz jądra macierzystego. Karolinskaja (1951) opisała amitozy w korzeniach i cebulach czosnku, tulipana i cebuli. Rodkiewicz (1953) znalazł amitozy w tkankach marchwi hodowanych in vitro.

Materiał i metody

Badania przeprowadzałam na korzeniach i hypokotylach *Lupinus albus* L. i *Lupinus luteus* L.

Nasiona tych roślin wysiewałam do doniczek z ziemią ogrodową, umieszczonych w świetle dziennym w pracowni. Po dwóch tygodniach od dnia wysiewu odcinałam wierzchołkowe części korzeni długości 6—8 mm i części podliścieniowe długości 1 cm od granicy korzenia. Uzyskany w ten sposób materiał utrwalałam w płynie Nawaszina. Helly oraz Bendy (bez kwasu octowego). Pc przeprowadzeniu do parafiny sporządzałam z hypokotyla skrawki mikrotomowe podłużne i poprzeczne grubości 10 μ; korzenie krajałam na skrawki podłużne i poprzeczne grubości 6 μ. Barwiłam hematoksyliną żelazową Heidenheina, safraniną, fioletem gencjanowym i oranżem G według metody Flemminga oraz stosowałam reakcję Feulgena, a jąderka podbarwiałam zielenią świetlistą.

Badania własne

U *L. albus* i *luteus* jądra tkanek stałych mają strukturę prochromosomową. Liczba prochromosomów waha się w pewnych granicach u L. albus najczęściej jest ich 28. W jądrze znajduje się jedno jąderko. (W telofazie powstają kilka jąderek, lecz wkrótce, zwykle jeszcze w późnej telofazie, zlewają się w jedno). Jądra merystemu wierzchołkowego korzenia — mimo zastosowania różnych płynów utrwalających — na ogół wykazują strukturę jednolitą, homogenną.

Szereg komórek w różnych tkankach korzenia i hypokotyla obu gatunków łubinu zawiera dwa jądra. Komórki dwujądrowe obserwowałam w skórce, w wewnętrznych warstwach miękiszu kory pierwotnej, w endodermie, w perycyklu, który składa się z kilku warstw komórek miękiszowych, rzadko w kambium wiązkowym, z reguły w kambium międzywiązkowym oraz w rdzeniu hypokotyla.

W korzeniu komórki dwujądrowe zdarzają się rzadziej, niż w hypokotylu. Obserwowałam je na granicy strefy wzrostu i strefy wydłużania — w peryblemie i w dermatogenie, oraz w strefie wydłużania i różnicowania — w skórce i w korze pierwotnej.

Komórki dwujądrowe występują pojedynczo lub częściej — w grupie. Można to dokładnie prześledzić na skrawkach seryjnych.

Ustaliłam, że komórki dwujądrowe powstają trzema sposobami: 1) wskutek amitozy — w przeważającej większości wypadków, 2) drogą fragmentacji jądra, 3) z powodu wytworzenia niekompletnej przegrody pierwotnej w telofazie.

1. ROZMNAŻANIE SIĘ JĄDER DROGĄ AMITOZY

Jak wspomniałam wyżej, komórki dwujądrowe zwykle spotyka się w grupach. W takiej grupie można dokładnie prześledzić poszczególne stadia rozmnażania się jąder, wskazujące na amitotyczny charakter tego podziału.

Jądra w cyklu amitotycznym wykazują strukturę charakterystyczną dla tkanki, w której komórkach się znajdują: w merystemie wierzchołkowym — homogenną, w tkankach stałych — prochromosomową.

H y p o k o t y l. Na fig. 1 przedstawiłam kolejne stadia podziału amitotycznego w komórkach wewnętrznej części miękiszu kory pierwotnej. W pierwszym stadium (b) widać dwa jąderka i wydłużenie jądra. W dalszych stadiach (c, d) następuje stopniowe przewężanie się jądra, zachodzące zwykle w połowie jądra macierzystego. Jądra potomne oddalają się od siebie zachowując tzw. mostek. Następnie jądra potomne oddzielają się, początkowo zachowując resztki mostka (e); po ostatecznym zakończeniu podziału amitotycznego jądra potomne pozostają zwykle w tym samym skupieniu cytoplazmy, nie przedzielone wakuolą. (Faza podziału amitotycznego przedstawiona na rys. 1c przypomina obrazy zle-

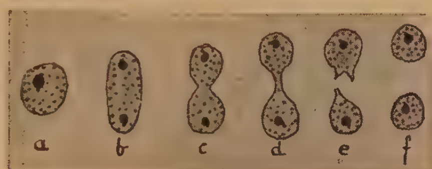


Fig 1. *Lupinus albus* L. Miękisz kory pierwotnej hypokotyla. Studia podziału amitotycznego jądra. a — jądro macierzyste; b — jąderko podzieliło się na dwa potomne, jądro uległo wydłużeniu; c — przewężenie jądra macierzystego, dzielące je na dwie części; d — oddalanie się od siebie jąder potomnych, połączonych ze sobą tzw. mostkiem; e — jądra potomne oddzieliły się, przy każdym z nich widać resztki mostka; f — jądra potomne po zakończeniu podziału amitotycznego.

Lupinus albus L. Parenchyme cortical de l'axe hypocotylé. Stades de la division amitotique du noyau, a — noyau maternel; b — nucléole divisé en deux nucléoles fils, le noyau s'est allongé; c — étranglement du noyau maternel; d — éloignement de noyau-fils, reuni entre eux par une anastomose; e — les noyaux-fils sont complètement libres et chacun garde le restant d'anastomose; f — noyaux-fils après l'amitose. X 400.

wania się jąder; jednak mniejsze rozmiary oddzielających się jąder potomnych w porównaniu z jądrami nie dzielącymi się wskazują, iż zachodzi tu podział, a nie zlewanie się jąder; w wypadku zlewania się jąder w stadium, które mógłby przypominać rys. 1c, następuje zwykle już zlewanie się jąderek; w końcu, resztki mostka z widocznymi śladami rozerwania — przedstawione na rys. 1e — ostatecznie dowodzą, że nastąpiło tu rozdzielenie jąder).

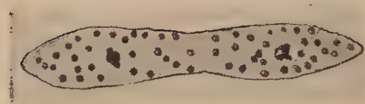


Fig. 2. *L. albus* L. Miękisz kory pierwotnej hypokotyla. Pierwsze stadium podziału amitotycznego jądra. Widać 55 prochromozomów.
L. albus L. Parenchyme corticale de l'axe hypocotylé. Premier stade de l'amitose. On voit 55 prochromosomes. × *900.*

W przebiegu amitozy, zachodzącej w jądrach o widocznej strukturze prochromozomowej, można wyróżnić dwa warianty:

I. Pierwszemu stadium cyklu amitotycznego (podział jąderka, wydłużenie jądra) towarzyszy powielenie liczby prochromozomów do kilkudziesięciu 30—55, (fig. 2). Jądra potomne otrzymują wtedy zwykle niejednakową ilość prochromozomów, ale w każdym jest więcej niż po 14 (fig. 3).



Fig. 3. *L. albus* L. Miękisz kory pierwotnej hypokotyla. Podział amitotyczny jądra. W jądrach potomnych znajduje się 25 (a) i 22 (b) prochromozomów.

L. albus L. Parenchyme cortical de l'axe hypocotylé. La division amitotique du noyau. Dans les noyaux-fils on remarque 25 (a) et 22 (b) prochromosomes. × *900.*

II. W pierwszym etapie podziału amitotycznego następuje jedynie podział jąderka i wydłużenie jądra. Prochromozomy zostają podzielone pomiędzy jądra potomne najczęściej równomiernie, (fig. 4), lub nierównomiernie. (fig. 7 — na rys. b widać dwa jądra w komórce skórki, z których jedno ma 20 prochromozomów, drugie — 8). Po pewnym czasie od zakończenia podziału ilość prochromozomów stopniowo dochodzi do liczby charakterystycznej.



Fig. 4. *L. albus* L. Miękisz kory pierwotnej hypokotyla. Podział amitotyczny jądra. W obu jądrach potomnych znajduje się po 14 prochromozomów.

L. albus L. Parenchyme cortical de l'axe hypocotylé. La division amitotique du noyau. Dans les noyaux-fils il y à dans chacun 14 prochromosomes × *900.*

Pragnę podkreślić, że w żadnym z opisywanych przeze mnie wypadków nie zachodzi zjawisko tzw. pseudoamitozy. Przy pseudoamitozie podział jądra odbywa się przez przewężenie, lecz wyróżnicowujące się chromozomy dzielą się tak, jak w mitozie (K ü s t e r, 1951).

W obserwowanych przeze mnie amitozach nigdy nie spotykałam chromozomów, które w jądrach o budowie prochromozomowej łatwo byłoby zauważyć.

Amitoza w moim materiale nie prowadzi do degeneracji ani nie jest zjawiskiem patologicznym; jądra pochodzące z podziałów amitotycznych są normalne i odbudowują już po podziale prochromozomy do ilości charakterystycznej.

Amitozy i komórki dwujądrowe obserwowałam w takich tkankach, które w dalszej ontogenezie obumierają, oraz w takich, które pozostają żywe i w których jądro stanowi istotny element. Pierwszą grupę tkanek reprezentują naczynia (fig. 5), w tkankach drugiego typu spotykałam opisane wyżej zjawiska w rdzeniu (fig. 6), w skórce (fig. 7), w miękiszu kory pierwotnej, w miękiszu perycyklu i w kambium.



Fig. 5

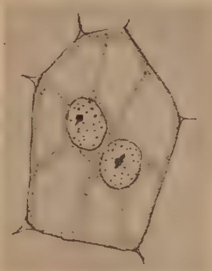


Fig. 6

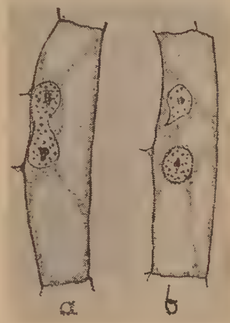


Fig. 7

Fig. 5. *L. albus* L. Dwa jądra w naczyniu metaksylenu.
L. albus L. Deux noyaux dans un vaisseau du métaxylème. × *400.*

Fig. 6. *L. luteus* L. Komórka dwujądrowa w rdzeniu hypokotyla.
L. luteus L. Cellule à deux noyaux dans la moelle de l'axe hypocotylé. × *400.*

Fig. 7. *L. albus* L. Skórka hypokotyla. Amitoza i komórka dwujądrowa. Na rys. b jedno jądro ma 8 prochromozomów, drugie — 20.

L. albus L. Epiderme de l'axe hypocotylé. Amitose et cellule à deux noyaux. Fig. b — dans un noyau on remarque 8 prochromosomes, dans le second — 20. × *400.*

W kambium międzywiązkowym nie widziałam ani jednej mitozy, w przeciwieństwie do kambium wiązkowego, dzielącego się na ogół mitotycznie. Na fig. 8 przedstawiony jest typowy obraz komórek ze strefy kambium międzywiązkowego na przekroju podłużnym stycznym. Fig. 9 przedstawia komórki kambium międzywiązkowego w przekroju poprzecznym. W komórkach kambium międzywiązkowego oraz w pasmach komórek do niego przylegających niemal zawsze występują komórki dwu-

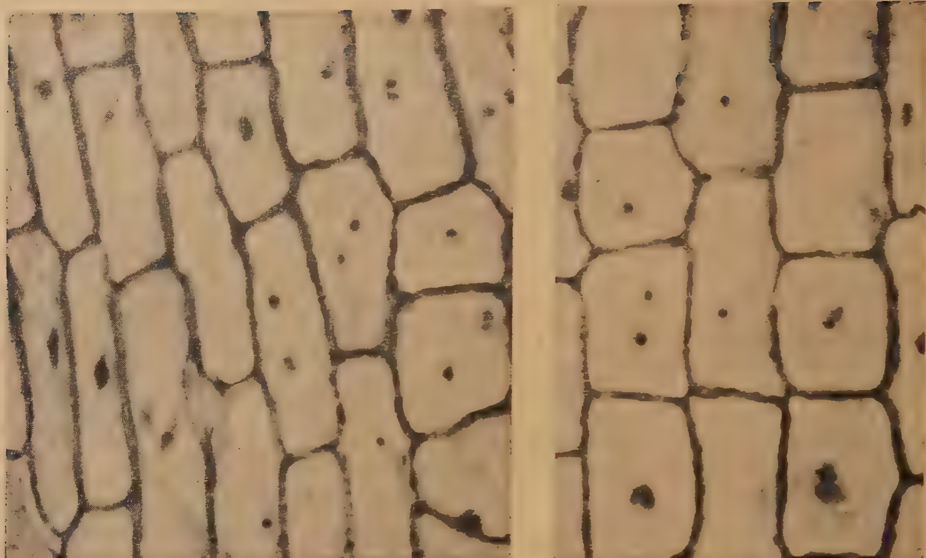


Fig. 8. *L. albus* L. Mikrofotografia fragmentu tkanki ze strefy kambium międzywiązkowego (przekrój styczny). Widoczne komórki dwujądrowe oraz stadia podziału amitotycznego.

L. albus L. Microphotographie d'un fragment de région du cambium interfasciculaire en formation en coupe tangentielle. On remarque des cellules à deux noyaux ainsi que différentes phases de l'amitose. × 400.

jądrowe, a także i trzyjądrowe, powstające drogą amitozy. Widać również podziały komórek — najczęściej styczne, a także promieniste. Ponieważ — jak wspomniałam wyżej — w strefie kambium międzywiązkowego nie spotyka się mitoz, trzeba przyjąć, że po amitotycznym podziale jądra następuje podział komórki.

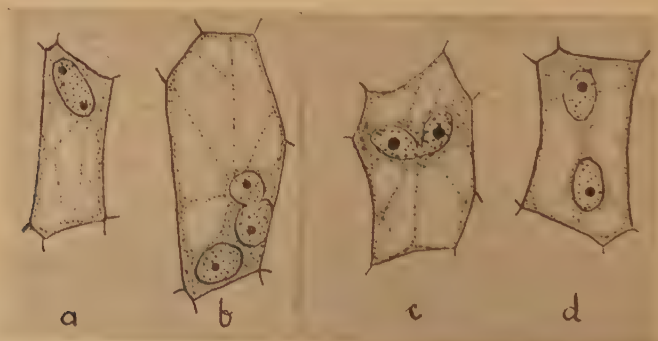


Fig. 9. *L. luteus* L. Kolejne stadia amitozy w kambium międzywiązkowym. Przekrój poprzeczny.

L. luteus L. Stades progressifs de l'amitose dans le cambium interfasciculaire de l'axe hypocotylé. Coupe transversale. × 900.

Dlaczego właśnie w kambium międzywiązkowym znajduje się z reguły komórki dwujądrowe? W tej sprawie można by wysunąć następującą hipotezę: jak wiadomo, dla komórek tkanki twórczej charakterystyczne są duże jądra i duże jąderka w stosunku do wielkości komórki. (Podkreśla to B u v a t, 1944). U obu gatunków łubinu w kambium międzywiązkowym występują wprawdzie niewielkie jądra, ale zwykle po dwa w komórce. Być może, że w ten sposób osiągnięty zostaje stosunek powierzchni jądra do objętości cytoplazmy, który jest właściwy tkankom twórczym i konieczny do ich normalnego funkcjonowania.

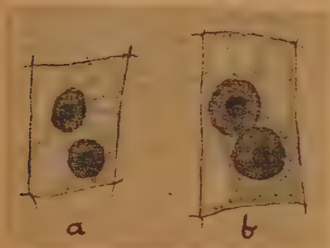


Fig. 10. *L. luteus* L. Korzeń, górna część strefy wzrostu; a — dermatogen, b — peryblem.

L. luteus L. Racine. Partie supèrieure de la région d'acroissement, a — dermatogène, b — periblème.

× 630

K o r z e ń. W korzeniu komórki dwujądrowe często są zgrupowane obok siebie. Spotykałam je w dermatogenie i w peryblemie obszaru przejściowego między wierzchołkiem wzrostu a strefą wydłużania (fig. 10). W korze pierwotnej i w skórce strefy wydłużania i różnicowania można zaobserwować wszystkie fazy amitotycznego podziału jąder, doprowadzającego do powstania komórek dwujądrowych (fig. 11).

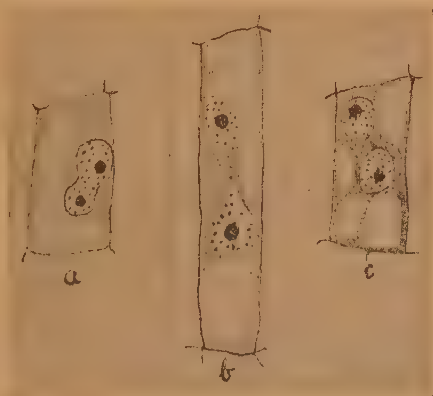


Fig. 11. *L. albus* L. Korzeń. Strefa różnicowania. Kolejne stadia amitotycznego podziału jądra.

L. albus L. Racine. Région différenciée. Studies progressifs de l'amitose.

× 630

2. FRAGMENTACJA JĄDER

Fragmentację jąder obserwowałam w młodych elementach floemu (fig. 12), oraz w komórkach przekształcających się w elementy ksylemu (fig. 13). Każda część jądra, powstała drogą fragmentacji posiada jąder-

ko; co się tyczy prochromozomów, to można stwierdzić niekiedy, że wszystkie części powstałe z rozpadu jądra macierzystego mają w sumie 28 prochromozomów, a więc ilość najczęstszą w jądrach łubinu białego (fig. 12). W moim materiale fragmentacja jest już pierwszym stadium degeneracji jądra; prowadzi ona do zaniku jądra, którego nie posiadają już ostatecznie wykształcone elementy przewodzące.



Fig. 12

Fig. 12. *L. albus* L. Fragmentacja jądra w komórce różnicującej się na elementy floemu. (hypokotyl).

L. albus L. Fragmentation du noyau dans la cellule, qui se differencie dans la direction de phloème. (l'axe hypocotylé).

× 630

Fig. 13. *L. luteus* L. Fragmentacja jądra w komórce różnicującej się na elementy ksylemu (hypokotyl).

L. luteus L. Fragmentation du noyau. Cette cellule se differencie dans la direction du xylème.

× 630



Fig. 13

3. POWSTAWANIE NIEKOMPLETNEJ PRZEGRODY PIERWOTNEJ W TELOFAZIE

W młodych częściach hypokotyla obserwowałam późne telofazy, w których fragmoplast nie dochodził z jednej strony do błony komórki macierzystej (fig. 14), a także komórki z dwoma interfazalnymi jądrami, przedzielonymi odcinkiem błony komórkowej z jednej strony dochodzącej do błony komórki macierzystej, z drugiej strony kończącym się w połowie komórki macierzystej (fig. 15). Obrazy te są podobne do tych, jakie obserwował Buvat (1944). Buvat w oparciu o zjawisko, iż

Fig. 14. *L. albus* L. Kora pierwotna hypokotyla. Niekompletne wytworzenie przegrody pierwotnej w telofazie Fragmoplast nie dochodzi do błony komórki macierzystej.

L. albus L. Partie corticale de l'axe hypocotylé. La formation incomplète de la cloison primaire en télophase. Le phragmoplaste n'atteint pas la paroi de la cellule maternelle.

× 900



Fig. 14

przy cytokinezie dużych komórek (miękisz, kambium) fragmoplast tworzy się wolno i długo się utrzymuje, stwierdził, że niekiedy wrzeciono cytokinetyczne nie mogąc się przebić przez wakuolę, daje w efekcie niekompletną przegrodę pierwotną.



Fig. 15. *L. albus* L. Kora pierwotna hypokotyla. Komórka dwujądrowa powstała wskutek niekompletnie wytworzonej przegrody pierwotnej.

L. albus L. Région cortical de l'axe hypocotylé. La cellule à deux noyaux est née a la suite de la formation incompléte de la cloison primaire.

× 630

Taką genezę komórek dwujądrowych stwierdzałam jedynie wyjątkowo; komórki dwujądrowe w moim materiale powstawały głównie drogą amitotyczną.

*
* *

Ukazujące się w ostatnich latach doniesienia o podziale amitotycznym jądra w komórkach roślin wyższych, a także przytoczone powyżej moje obserwacje nasuwają przypuszczenie, iż zjawisko to jest bardziej powszechne, niż dotąd uważano.

Serdecznie dziękuję profesorowi dr F. Skupieńskiemu i prof. dr A. Wałek Czerneckiej za opiekę i cenne uwagi oraz mgr S. Wisłockiemu za wykonanie mikrofotografii.

STRESZCZENIE WYNIKÓW

1. Stwierdzono występowanie komórek dwujądrowych w dermatogenie, peryblemie, skórce i korze pierwotnej korzenia, oraz w skórce, miękiszu kory pierwotnej i walca osiowego, w kambium międzywiązkowym i wiązkowym hypokotyla *Lupinus albus* L. i *Lupinus luteus L.*, niepoddawanych działaniu żadnych sztucznych czynników zewnętrznych.

2. Komórki dwujądrowe powstają głównie drogą amitozy.

3. W strefie kambium międzywiązkowego występują jedynie amitozy, doprowadzające do powstania komórek dwujądrowych; amitozy te znów prowadzą do podziału komórek.

4. Stwierdzono podziały jąder przez fragmentację w młodych komórkach różnicujących się na elementy ksylemu i floemu.

5. W nielicznych wypadkach komórki dwujądrowe powstają wskutek niekompletnego wytworzenia przegrody pierwotnej w telofazie.

RÉSUMÉ

Dans le présent travail on a établi l'existence de cellules à deux noyaux dans le dermatogène, le periblème, dans l'épiderme et l'ecorce primaire de la racine, ainsi que dans l'épiderme, le parenchyme cortical et cylindrique, dans le cambium interfasciculaire et fasciculaire de l'axe hypocotylé de *Lupinus albus* L. et *Lupinus luteus* L., sans que ces éléments soient soumis à l'action de facteurs artificiels externes.

Les cellules à deux noyaux se forment principalement amitotiquement.

Dans la région du cambium interfasculaire il y a uniquement des amitoses, conduisant à la formation de cellules binucléaires; ces amitoses conduisent à leur tour à la division des cellules.

On a établi dans les cellules du cambium fasciculaire, dans la direction du xylème et du floème, la division de noyaux par fragmentation.

Rarement les cellules binucléaires prennent naissance à la suite de la formation incomplète da la cloison primaire.

LITERATURA

1. Buvat R., 1944. Recherches sur la dédifferenciation des cellules végétales. Ann. des Sc. Nat. Botanique, 5: 1-113.
2. Ellenhorn J. E., Głuszczenko I. E., Afanasjewa A. S., 1951. Niekotoryje woprosy genezisa rastitielnoj kletki. Izw. Ak. Nauk SSSR, ser. bioł., nr. 5, 12-34.
3. Flint L. H., Moreland C. F., 1946. Study of the stomate in sugarcane. Amer. Journ. of Bot, 33: 80-82.
4. Karolinskaja H. M., 1951. Znaczenije amitoza w processje razmnożenija kletok. Agrobiołogia, nr. 3, 98-103.
5. Küster E., 1951. Die Pflanzenzelle. 866 pp. G. Fischer, Jena.
6. Rodkiewicz B., 1953. Amitotyczne podziały jąder w tkankach marchwi hodowanych in vitro. Acta Soc. Bot. Poloniae, 22: 349-354.

Endosperm, material for study on the physiology of cell division

ENDOSPERM: MATERIAŁ DO BADAŃ NAD FIZJOLOGIĄ PODZIAŁU KOMÓRKI

by

A. BAJER and J. MOLÈ-BAJER

Laboratory of Plant Physiology. Jagellonian University, Kraków, Grodzka 53

entered: 20.X.53

STRESZCZENIE

Mimo licznych badań, dotychczas jest znanych bardzo mało obiektów odpowiednich do badań in vivo nad mitozą i pokrewnymi problemami. Ważne więc jest znalezienie materiału lub metody bardziej ogólnej, tzn. udostępnienie do badań in

vivo większej ilości roślin. Takim materiałem może być endosperma. Zalety endospermy, jako materiału do badań in vivo były omówione poprzednio (B a j e r 1953b). W celu stwierdzenia czy bielmo większej ilości roślin nadaje się do badań i w jakim stopniu, wykonane zostały badania nad endospermą jedno i dwuliściennych, przy czym szczególną uwagę zwrócono na jednoliścienne. W czasie pracy przebadano porównawczo mitozę in vivo u około 20 rodzajów.

Używano metody opisanej dokładnie w poprzedniej pracy (B a j e r 1953b). Metoda ta jest zadawalniająca do obserwacji podziału od metakinezy do telofazy u prawie wszystkich roślin, natomiast u części objektów profazy nie są kontynuowane w tych warunkach. Metoda ta może być jednak znacznie udoskonalona. Najprawdopodobniej dostarczenie tlenu, który wydaje się niezbędnym do normalnego rozwoju profazy umożliwi u takich roślin obserwację mitozy od wczesnej profazy do jąder spoczynkowych. Wskazuje na to endosperma *Haemanthus*, w którym po dostarczeniu tlenu normalna mitoza jest kontynuowana co najmniej przez 24 godz. (B a j e r 1954). Wśród badanych roślin u *Iris, Leucojum, Zephyranthes* i *Pisum* ponad 90% komórek w warunkach beztlenowych kontynuowało mitozę od wczesnej profazy do telofazy bez śladów zaburzeń. Powyższe objekty uważane są za najłatwiejsze z przebadanych. Ponad to łatwymi są: *Ornithogalum, Asparagus, Agapanthus, Haemanthus, Helianthus*, natomiast niezwykle trudnymi: *Lupinus Veratrum, Vicia* i *Borago*. Jedną z głównych trudności w tych ostatnich objektach jest znalezienie mitozy. W pracy podano wykresy ruchu chromozomów w anafazie oraz Tabele ilustrujące przebieg mitozy w różnych objektach. Okazało się, że czas anafazy — stadium, które było najdokładniej obserwowane, jest tym krótszy im mniejsze są chromozomy. We wszystkich obserwowanych objektach znaleziono różny stopień działania „Stemmkörper".

Jednoliścienne okazały się materiałem lepszym i łatwiejszym niż dwuliścienne, jakkolwiek niektóre objekty z tych ostatnich, nie są trudne (np. *Pisum* i *Helianthus*) i nadają się do bardziej szczegółowych badań. W pracy podano bardzo dokładnie uwagi metodyczne, oraz podano wady i zalety endospermy. Autorzy uważają, że otrzymane wyniki uprawniają do wysunięcia wniosku, że endosperma jest najlepszym materiałem do badań in vivo mitozy u roślin i zasługuje na używanie go do badań na większą skalę.

INTRODUCTION

The plants in which mitosis in vivo can be observed are very few. B e c k e r, (1938) and R o s k i n (1951) mention about 20 species. but even so, most of these species are difficult to prepare and their course of cell division is hardly visible. Also the results obtained with some species are not necessarily valid in the case of most species. E. g. the nuclear membrane which persists throughout mitosis in *Osmunda* and *Tradescantia* (W a d a 1942, 1950), seems also to appear in *Hymenophyllum* (B a j e r and M o l è - B a j e r 1953), but has not been found in about 30 species of those listed in Table I. To make possible detailed study the material chosen should have adequate properties, such as e. g.: convenient dimensions of the chromosomes (for studies on the chromosome structure chromosomes should be large), suitable distance of chromosome se-

paration, or duration of mitosis. Also for studies of chondriosomes, primary cell wall formation or nucleoli behaviour, special material must be chosen. In our opinion the endosperm is the material most suitable for many types of experimental studies. It is of great importance in quantitative studies on the influence of different chemical and physical factors on the course of cell division, as in one preparation as many as 50—300 mitoses can be observed. Experiments with the endosperm of *Haemanthus* (B a j e r 1953, a, b, 1954) have shown the great advantages of the endosperm as material for investigations. Also these investigations have been undertaken to demonstrate the endosperm as material for studies in vivo. Therefore our aim has been to:

1. study in vivo the properties of the endosperm from numerous species (mono and dicotyledons),
2. elaborate simple methods adequate for any kind of material,
3. make preliminary comparative observations on the course of mitosis in the endosperm of different species.

MATERIAL AND METHODS

M a t e r i a l. Detailed notes on material are given together with the results of observations on each species. All the material studied was obtained from the Botanical Garden and Plant Breeding Institute of the Jagellonian University. In Table I the investigated species together with some of their properties are listed.

M e t h o d s. The method used is the same as that described in detail in a previous paper (B a j e r 1953): a vaseline ring is drawn on a ungreased glass square, the area within ring is smeared with an agar and glucose solution, then the endosperm with the liquid surrounding it is pressed on, and the whole is covered with a second glass also smeared with agar and glucose; the edges of the two glasses are made secure with liquid paraffine This simple method, very quick and convenient, is suitable for all preliminary and many detailed studies. In the case of *Haemanthus*, studied previously, and some other species (cf. below) division often stops at prophases and cells die. This is probably caused by the lack of oxygen, which according to B u l l o u g h's (1952) studies is necessary in prophase. It has been found in the case of *Haemanthus* (B a j e r 1954) that, if the normal hanging drop is used (the drop must be very flat and thin) and the drop is placed in pure oxygen, mitosis develops even from very early prophase in more than 90 per cent of cells, and cell division may have a normal course as late as 24 hrs. after preparation. It is most probable that similar results will be obtained with this improved method in the case of those plants described here in which division is interrupted at prophase. The general rules for distinguishing the cells injured during preparation are to be found in an earlier paper (B a j e r 1953b).

Most graphs of the chromosome movement are plotted in the manner described in detail in a previous paper (B a j e r 1950), and some are plotted from cinemicrographies or microphotos.

TABLE I

List of investigated species. Material valuable and easy to handle marked by *, ? — the concentration was not established. Chromosome numbers according to *Darlington* and *Janaki Ammal* (1945)

Name of species	Chromosome number (2x)	Agar with glucose concentration in %	Suitability for experiments		
			Approximate date	Number of weeks after flowering	Number of weeks it lasts
**Ornithogalum umbellatum*	27	0,5; 3	10 May	2—3	4
**Ornithogalum nutans*	30	?	15 May	2—3	4
Veratrum nigrum	64	0,5; 3	20 Aug.	3	4
Veratrum album	?	?	10 Aug.	3	4
Funckia subcordata	60	0,5; 3	25 Jul.	4	5
**Asparagus pseudoscaber*	?	0,5; 4	1 Jun.	3—4	5
**Asparagus officinalis*	20	?	1 Jul.	3—4	5
Agapanthus umbellatus	34	0,5; 3	1 Aug.	3—4	3
**Leucojum aestivum*	22	0,5; 3	15 Jun.	5—6	3
**Zephyranthes candida*	38	0,4; 3,5	1 Sept.	3	4
**Haemanthus katharinae*	18	0,4; 3 5 0,5; 3,5	1 Aug.	3—4	8
**Haemanthus puniceus*	?	0.4, 3 0,5; 3	25 Jul.	3—4	3
**Haemanthus albiflos*	16	?	25 Aug.	3—4	3
Narcissus poeticus	14, 21, 28	?	15 Jun.	3—4	4
**Clivia miniata*	22	?	Feb., Aug.	3—4	4
**Clivia nobilis*	22	?	Feb., Aug.	3—4	4
**Iris xiphioides*	32	0,5; 3,5	20 Jun.	4	3
Iris prismatica	42	?	15 Jun.	3—4	3
**Iris pumila*	32, 36	?	25 May	3—4	3
Iris sibirica	?	0,5; 3	15 Jun.	3—4	3
Iris germanica	44	?	15 Jun.	3—4	3
Iris florentina	24	?	25 Jun.	3—4	3
**Iris aphylla*	24, 48	0,5; 3,5	25 May	3—4	3
Iris interregna	?	0,5: 3-3,5	10 Jun.	3—4	2
Secale cereale	14	?	15 Jun.	few days	few days
Peonia officinalis	10, 20	?	1 Jun.	3—4	3
**Pisum sativum*	14	0,5; 4,5 0'5; 5	1 Jun.	3—3	10
Vicia faba	14	0,5; 5,5	1 Jun.	3	10
Lupinus pulyphyllus	48	0,5; 4	1 Jun.	3—4	12
Borago officinalis	16	0,5; 3	1 Aug.	3	4
**Helianthus annuus*	34	0,5: 4	25 Jul.	4	8

NOTES ON HANDLING THE ENDOSPERM IN VIVO

1. The phase contrast illumination in inversion microscope is most conveniant.
2. Ungreased cover slips should used. The agar with glucose used for smearing the glass should not be too warm so as not to melt the vaseline ring.
3. Usually 0,4—0,5 per cent agar and 3—6 per cent glucose concentrations are used. Stronger agar concentrations cause the liquification of cytoplasm and of mitotic spindles. The endosperm cells of some species are sensitive to 0,5 per cent differences of the concentration of glucose and mitosis is continued only within sharply defined limits of concentrations. In endosperm of other species mitosis may also develop in pure 0,4—0.5 per cent agar solution (without glucose). The supply of oxygen seems to diminish the sensitivity of cells to light and mechanical injuries.
4. Hypotonic agar-glucose solutions usually cause: decrease in the refraction index in chromosomes, liquefaction of cytoplasm, destruction of the spindle (vigorous Brownian movements), formation of vacuoles, as well as the swelling and disappearance of chondriosomes.
5. The hypertonic agar- glucose solutions usually cause: increase in the refraction coefficient in chromosomes, stiffening of the spindle, interruption in the formation of cytoplasmic amoeba-like protrusions (in young endosperm and often cell coagulation.
6. In most cases a well formed embryo indicates that the endosperm is too old. In monocotyledons the endosperm is suitable for study when in the embryo sac there is either no embryo or when embryos are very small; in diccotyledons the suitability of endosperm is indicated by the presence of small cotyledons.
7. Young endosperm is more suitable for experiments.
   a) The characteristic features of young endosperm are: amoeba-like protrusions form vigorously, the chondriosomes are well visible and the starch grains are either small or there are none. Amoeba-like protrusions are formed most vigorously in prophase and in telophase while during metaphase and anaphase such cells are often rounded. The too young endosperm is flaky, mitoses are few and are highly synchronised i. e. prophase, metaphase and anaphase occur more or less at the same time. Individual cells in very young endosperm are rarely found. The substance from embryo sacs with young endosperm suitable for study is colourless and has a delicate whitish suspension of endosperm cells.

b) The characteristic features of ola endosperm are: cells are usually rounded, starch grains are numerous and during mitosis usually surround the spindle poles, amoeba-like protrusions form rarely. In some species among old endosperm young cells are sometimes found (e. g. *Iris*). The endosperm i nsome species grows old slowly and in others rapidly, and it may remain young some weeks or a few days only. The liquid of embryo sacs with old endosperm is white or whitish.

8. Mitoses are more easily found in endosperm with large or medium than small chromosomes. It seems also probable that in some endosperms there is periodicity of mitosis (day and night).
9. Small embryo sacs are more difficult to handle than large ones. If the quantity of embryo sac liquid is small, the liquid from several embryo sacs may be mixed together.
10. During hot days at noon mitoses are often few. In fruits kept in a Petry dish covered with damp blotting paper for 1—2 days mitoses are often more numerous than on the day they are cut off.

The above is geenrally true, though in the case of some species. there may be exceptions.

NOTES ON MONOCOTYLEDONS

Numerous species are very suitable for studies on endosperm in vivo, especially those from the *Liliaceae*, *Amaryllidaceae* and *Iridaceae* families, and also probably several species from the *Araceae* family. The *Gramineae* are less convenient for experiments because the endosperm from this family grows old very quickly and very soon numerous starch grains appear in it, rendering the observations very difficult.

Plants containing etherous oils are not suitable. We have notisucceed in obtaining the continuation of mitosis in the different *Allium* species (*A. schoenoprasum A. odorum, A. cepa*) and it seems that the oils prevent mitosis. In any case the course of mitosis in endosperm of these species is not really noteworthy.

Theoretically all species in which free cell wall formation has been reported may be used for experiments. However, in practice it appeared that all species with very small embryo sacs are very difficult to prepare. E. g. *Lilium*, and *Tulipa* embryo sacs contain small quantities of liquid which makes them difficult to handle, though they are very probably otherwise convenient for study. The method used in the present work gives good results in studies on mitosis from metaphase to telophase, but very often is not satisfactory when prophase is to be observed. In the

latter case the hanging drops in oxygen, used with such good results on *Haemanthus* will probably be more convenient.

In the endosperm of monocotyledons studied during this work the course of mitosis is regular and usually very distinctly visible. In all the monocotyledoneous material which we have studied multiploid nuclei have been observed only very exceptionally.

Ornithogalum umbellatum L.

M a t e r i a l. Suitable embryo sacs are 3,5—4 mm long, greenish, slightly transparent with a delicate sculpture on the surface. The embryo sacs are contained in green fruit approximetely 20 mm long and 10 mm in diameter. Embryo sacs from the same fruit, or even from the same fruit chamber may be of different age. Old cells are found in a whitish liquid, young ones in a colourless liquid with a whitish suspension. Mitoses are found both in fruits cut off on the day of the experiment, or 1—2 days earlier. 50—70 per cent of cells continue division from prophase to telophase, also numerous cells begin and finish mitosis after preparation. Few cells are injured during preparation.

O b s e r v a t i o n s. In young endosperm amoeba-like protrusions are formed vigorously. Often the process of the formation of a protrusion may be traced in detail; protrusions are not found in old endosperm. The structure of the cytoplasm is „coarse“ and the cell surface seems to be slightly coagulated. Old cells contain numerous starch grains, agglomerating during mitosis mainly at the poles of the spindle. Chondriosomes are visible neither in young nor in old endosperm. The course of mitosis is not visible as clearly as in *Iris, Leucojum* or *Haemanthus.*

Resting nuclei are of the *Tradescantia* type, but the structure is less distinct here. 3—10 nucleoli clearly coacervate in nature are to be found. (Fig. 10). The connection between nucleoli formation and chromosome arms is well visible. The course of mitosis is regular and similar to that found in other objects. The time the different stages of mitosis lasts is given in Table II. In numerous normal spindles small particles inside the spindle are seen. The intensity and changes of Brownian movements are similar to those observed in *Haemanthus* (B a j e r 1953a). The course of anaphase has been carefully observed and is illustrated by graphs (Fig. 1) and Fig. 9 (A—G). The action of the pushing body is usually slight. As the outlines and the poles of the spindle are not sharply defined, the acceleration of the chromosome movement, which 5—10 mins after the beginning of anaphase begins, is the best proof of the pushing body action. Inside the pushing body or on its surface fibers are often visible. It is possible that some of these fibers are interzonal connections. Two kinds of primary cell wall formation are to be observed: from the centre or from the outer parts of the phragmoplast. In cells in which the pushing

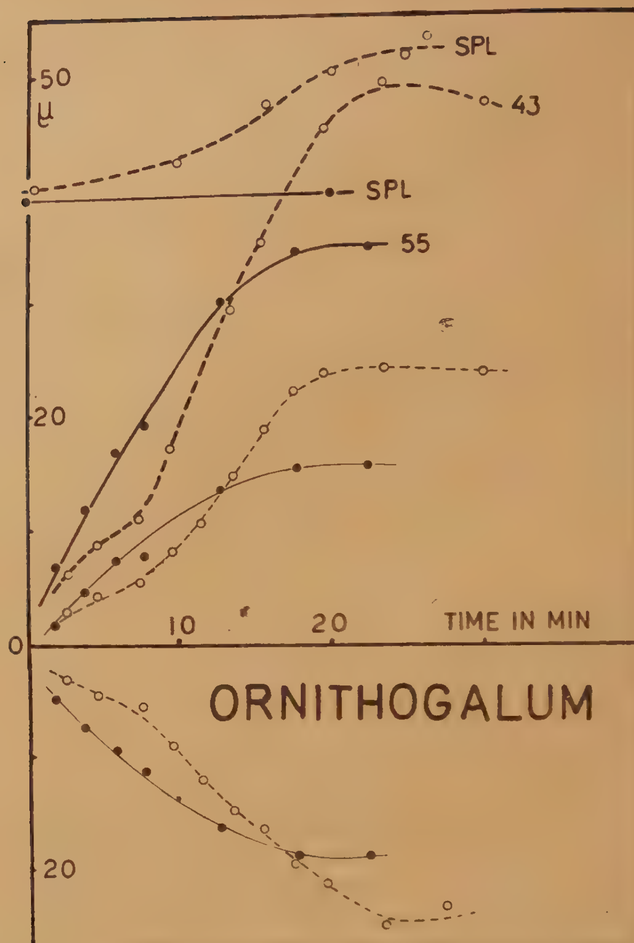


Fig. 1. *Ornithogalum umbellatum.* Curves of chromosome movement and spindle elongation (spl) in anaphase. Curves of two sister chromosome groups and resultant curves. In anaphase of cell No. 55 length of the spindle does not change. The band in the curve (cell No. 43) is caused by pushing body action. Note differences in shape of curves for these two cells.

body is active the cell wall is formed later than in cells where such action is not noticeable. The formation of the cell wall lasts several minutes. Chromosomes are of medium size and in prophase single chromosomes are difficult to distinguish. In prophase the at least double, and from metakinesis on the at least quadruple, chromosome structure is well visible. The process of longitudinal splitting of chromosomes before anaphase may be distinctly traced. In metaphase kinetochores are in one plain and the mechanism of the beginning and of the course of anaphase may be exactly observed in numerous cases.

TABLE II

Mitosis in *Ornithogalum umbellatum*

Mk — metakinesis, M — metaphase, A — anaphase, A_0 — beginning of anaphase, Phst — phragmoplast, 1 — late. Times measured to the beginning of the next stage.

No of cell	Duration in min. of		Appearing of nucleoli after A_0 in min.	Formation of primary cell wall in Phst		Spindle length in μ		Max. separation of chromosomes in A in μ	Notes
	Mk_1 and M	A		beginning of formation, min. after A_0	formation in min.	M	A_1		
7	—	15	55	20	4	37	50	47	
18	—	22	48	27	2	32	48	46	
21	—	22	62	27	—	35	—	43	
33	15	15	64	16	2	31	36	35	
43	15	22	49	—	—	40	55	49	strong action of pushing body, cell wall is formed from outer parts of Phst
50	20	22	54	22	2,5	32	40	37	
54	—	22	48	23	2	—	43	36	strong action of pushing body
57	—	19	70	22	1,5	37	46	37	

Veratrum nigrum L.

Material. A suitable fruit is 6—10 mm long, and contains small flying seeds. Embryo sacs are small and the liquid must be gathered together from 3—6 of them. Embryo sacs suitable for endosperm studies are whitish, half — tansparent, and contain colourless liquid. In the white liquid old cells are found. 30—80 per cent of cells continue mitosis after preparation. Strong light seems to injure the cells and stop mitosis. It is probable that a sufficient supply of oxygen would increase the percentage of dividing cells. This material is rather difficult to handle.

Observations. Cells are very small, and the refraction coefficient of cytoplasm is higher than in other object. In old cells numerous starch grains are visible in the cytoplasm and prevent the observations of mitosis. In young cells amoeba-like protrusions are formed. The chromosomes are very small and the course of mitosis is difficult to trace distinctly, e. g. it is difficult to distinguish prophase from metakinesis. Chromosomes are smaller than in *Pisum* but slightly larger than in *Lupinus*. In anaphase strong pushing body action is visible in almost all cells. Metaphase lasts about 10 mins, anaphase less than 10 mins. If the cell

is illuminated anaphase is considerably prolonged. In resting nuclei 1—2 nucleoli are found. Owing to the smallness of nuclei it is difficult to describe their structure. Figs 12 (A—F) illustrate this material and the course of anaphase.

Funckia subcordata Spreng.

Material, The suitable fruit is 30—35 mm long and 8—10 mm in diameter. The seeds are small and flying. Suitable embryo sacs are 5—6 mm long, whitish-pink, and contain small quantities of colourless liquid, and so 2—3 of them must be pressed together. It is difficult to define the most appropriate stage, though among the old cells some young ones may be found. 40—70 per cent of cells continue the division from prophase to telophase.

Observations. Mitosis may be observed in young cells only; in old ones it is difficult to observe the chromosomes and the spindle as they are hidden by very numerous starch grains. In many young cells starch grains also appear. Young cells form vigorously amoeba-like protrusions. The cytoplasm structure is similar to that in *Ornithogalum* and chondriosomes are not visible. The intensity of the Brownian movement indicates that the viscosity index of the spindle is only slightly higher than in *Ornithogalum* and *Iris*. The durations of different stages of mitosis are similar to those in *Iris* and the course of mitosis most resembles *Ornithogalum* mitosis. Chromosomes are numerous and of mediam size. Figs. 11 (A—C) illustrate the cells of *Funckia* endosperm.

Asparagus pseudoscaber Bl.

Material. A suitable fruit is green, ball-shaped, and about 5 mm in diameter. Preparation of embryo sacs is difficult. Cells are sensitive to mechanical stimuli and very numerous cells are injured during preparation. Those not damaged continue in 70—95 per cent to divide from prophase to telophase and probably enter and finish mitosis after preparation. Mitoses are easily found, though not numerous, in not more than 20 cells from each embryo sac after preparation.

Observations. Cells are small, usually very regular, ball or ellipsoid in shape. The formation of amoeba-like protrusions has not been observed. Cells are not fixed in agar which prevents the observations of numerous cells with an immersion lens, if an ordinary and not an inversion microscope is used. Numerous cells change their position which makes the observations more difficult. The cross section through the spindle is a circle, which has been confirmed by observations of metaphase and anaphase from the pole (Fig. 14). The high refraction coefficient of the chromosomes and the uniform structure of the cytoplasm make the course of mitosis very plainly visible. In young cells the cytoplasm contains no

TABLE III

Mitosis in *Asparagus pseudoscaber*

P — prophase, Mk — metakinesis, M — metaphase, A — anaphase, A_0 — beginning of anaphase, Phst — phragmoplastast, l — late. Times measured to the beginning of the next stage.

No of cell	Duration in min. of			Appearing of nucleoli after A_0 in min.	Formation of primary cell wall in Phst		Spindle length in μ		Max. separation of chromosomes in A in μ	Notes
	P	Mk_l and M	A		beginning of formation, min. after A_0	formation in min.	M	A_1		
204	40	10	14	—	—	—	29	22	22	cell wall is formed after several hours
208	35	—	8	—	25	—	—	—	20	
209	50	(M only) 6	10	60	20	3	18	25	23	
203	50	—	10	50	24	3	18	25	23	

starch grains. Chondriosomes are not to be seen. Varying numbers of nucleoli (6—14) are found in resting nuclei (Fig. 15). Cells are small and chromosomes numerous. Mitosis is quick and from prophase to telophase lasts 1,5—2 hours. The formation of the spindle in late prophase and the contraction stage resembling that of *Haemanthus* (B a j e r 1954) may be traced very distinctly. Spindle formation lasts 10—15 mins, metakinesis and metphase 15—20 mins anaphase less than 12 mins, formation of cell wall does not last longer than 3 mins, though usually it takes plac eseveral mins after the and anaphase. Table III illustrates the durations of different stages of mitosis, the course of anaphase the graphs on Fig. 2 and Fig. 11 (A—I). The pushing body action in anaphase is considerable. Chromosomes change their shape during some minutes, and the pushing body acts on chromosomes already partly changed. The first stage of resting nuclei formation is marked by the appearance of clear space with no chromosomes around the sister nuclei. The changes and the intensity of the Brownian movement are of the same rate as in most other objects.

Agapanthus umbellatus var. *minor (Agapanthus africanus* (W i l d.) W h e n. ssp. *praecox).*

M a t e r i a l. A suitable fruit is 20 mm long with white flying seeds. Grey and black fruit are too old. The suitable embryo sac liquid is colourless with a whitish suspension. 79—90 per cent of cells in prophase die in late prophase, metakinesis or metaphase. More than 90 per cent of those cells which after preparation are in metakinesis or metaphase continue their division to resting nuclei.

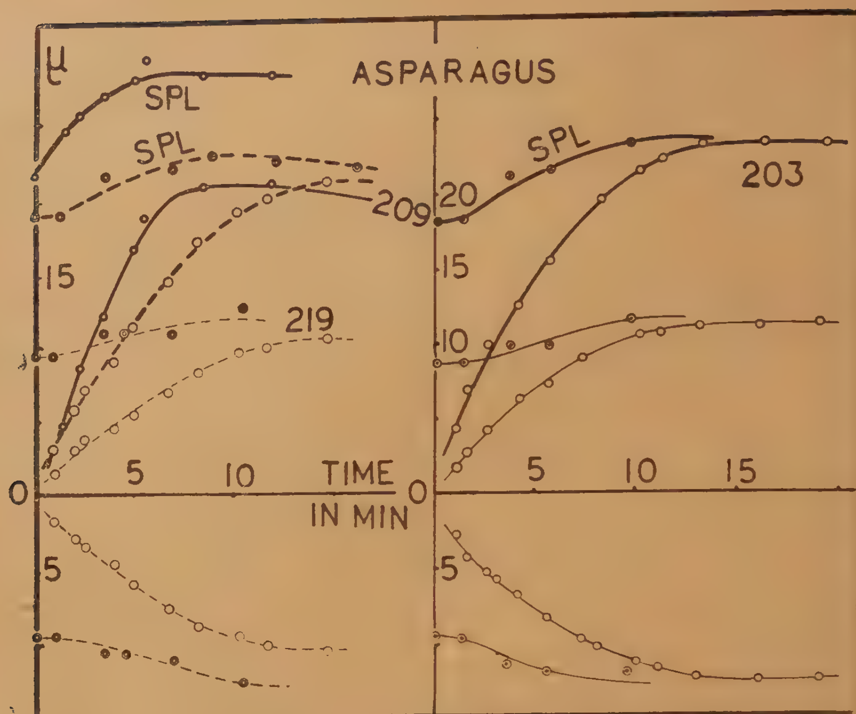


Fig. 2. *Asparagus pseudoscaber*. Curves of chromosome movement and spindle elongation (spl) in anaphase. Curves for two sister chromosome groups, for two half spindles and resultant curves. Anaphase curve for cell No. 209 plotted from microphotos. Pushing body begins to act almost immediately anaphase begins; there are no bands in the curves.

Observations. *Agapanthus* cells are of middle size and their cytoplasm structure is similar to *Ornithogalum*. Young cells form vigorously amoeba-like protrusions, and in old ones numerous starch grains are present. In resting nuclei usually 2 very large nucleoli are found. Usually chondriosomes are not visible. The structure of the resting nuclei is similar to that in *Ornithogalum*. The duration of the different mitotic stages resembles those in *Iris*, however the time of metaphase and anaphase seems to vary greatly in different cells. The action of the pushing body is evident. The formation of primary cell wall has been observed from the centre of the phragmoplast only. Chromosomes are numerous and their dimensions similar to those in *Iris*. Graphs in Fig. 3 and Figs. 16—17 illustrate the course of anaphase in *Agapanthus* endosperm.

Zephyranthes candida Herb.

Material. Fruit with suitable embryo sacs are about 5 mm long, and the length of embryo sacs is 3—4 mm. The embryo sacs are covered with very

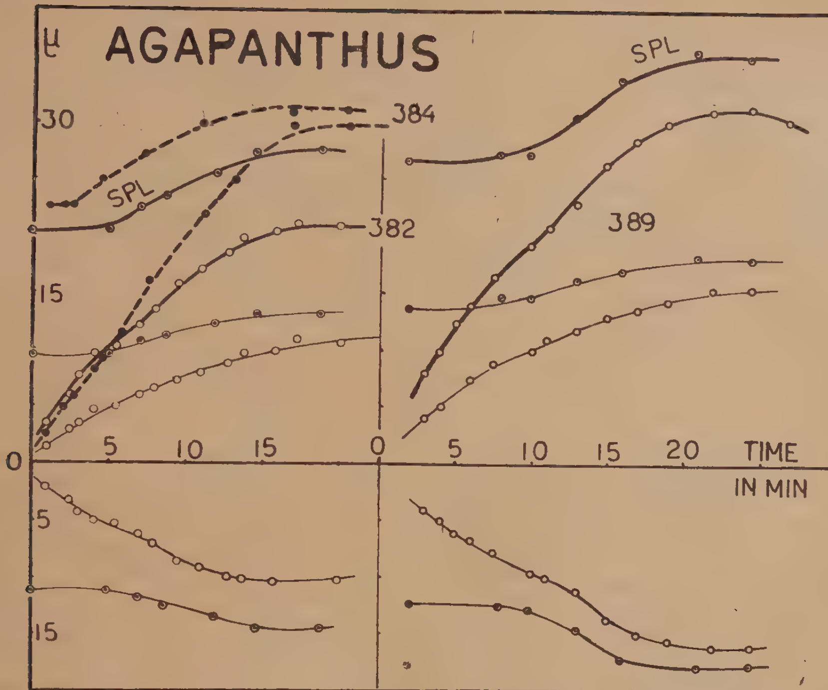


Fig. 3. *Agapanthus umbellatus*. Curves of chromosome movement and spindle elongation (spl) in anaphase. Curves for two sister chromosome groups, for two half spindles and resultant curves. Anaphase curves for cell No. 334 plotted from microphotos Action of the pushing body begins in early (cell No. 384) or in middle (cells No. 382, 389) anaphase. The pushing body causes the elongation of the spindle in one direction only and the whole anaphase spindle is shoved in one direction (to the lower part of the graph). Bands on the curves are caused by pushing body action.

delicate scultpre. Preparation is easy. Owing to the low fertility of this species artificial pollination is necessary. About 90 per cent of prepared cells continue division from early prophase. It is also probable that numerous cells enter and finish mitosis after preparation. Mitoses are easily found, and the material is undoubtedly valuable.

O b s e r v a t i o n s. Cells are medium in size and in young ones amoeba-like protrusions are formed. The cytoplasm structure resembles greatly that in *Iris*, and mitosis may be observed very exactly from prophase to telophase. Mitosis develops similarly as in *Iris aphylla*, and the course of mitosis is perfectly normal. The times of different stages of mitosis are given in Table IV, and the course of anaphase is illustrated by Figs. 19—20 (A—F). The action of the pushing body is to be seen in all observed cells. Cell walls are formed both from the centre and from the edges of the phragmoplast. The structure of the resting nucleus is similar to that in *Iris*, but the nucleus contains usually 2 nucleoli.

TABLE IV

Mitosis in *Zephyranthes candida*

P — prophase, Mk — metakinesis, M — metaphase, A — anaphase, A_1 — beginning of anaphase, Phst — phragmoplast, 1 — late. Times measured to the beginning of the next stage.

No of cell	Duration in min			Appearing of nucleoli after A_0 in min	Formation of primary cell wall in Phst.		Spindle length in μ		max. separation of chromosomes in A in μ	Notes
	P	Mk_1 and M	A		beginning of formation, min after A_0	formation in min	M	A_1		
400	—	—	26	90	30	5	22	37	30	
401	120	15	18	—	—	—	23	30	28	cell wall did not form
402	120	15	25	—	—	—	22	25	23	Mk lasts 30 min.
405	90	30—40	26	—	35	8	—	—	—	

Narcissus poeticus L.

This material is useful though only the fertile varieties are practical. Chromosomes are of medium size (similar to *Iris aphylla*), and mitosis is distinctly visible. However, it seems that oxygen is necessary for division. therefore experiments should be carried out with the method providing a free supply of this gas (cf. methods).

Haemanthus puniceus

M a t e r i a l. Embryo sacs of *H. puniceus* are prepared in the same way as in *H. katharinae* and as it has been described in a previous paper (B a j e r 1953b). Most cells of *H. puniceus* die in prophase and to observe division from prophase the hanging drop in pure oxygen should be used. From metakinesis on 70 per cent of cells — which is less than in *H. katharinae* — continue division to telophase with no oxygen supply. This material is easy to prepare and observe, and very valuable for numerous experiments.

O b s e r v a t i o n s. The course of mitosis, the duration of different stages, and the differentiation of chromosomes of *H. puniceus* resemble greatly those of *H. katharinae* and it is difficult to distinguish them in vivo. Similarly as in *H. katharinae* mitosis may be followed through in detail, and it is possible to observe the same chromosome from prophase to telophase. Also here, as in *Leucojum* and *H. katharinae* or *H. albiflos*, the uncoiling of chromatids is very plainly visible. The stages of mitosis last longer than in *Leucojum*.

Young cells should be used for study because in old ones starch grains impede observations. Fig. 21 illustrates a small and young cell of *H. puniceus* in metaphase and anaphase.

Leucojum aestivum L.

Material. The fruit of suitable age is approximately 30 mm long and 15 mm in diameter. Embryo sacs are dull white (those whitish-yellow are too old) slightly transparent, and about 7 mm in diameter. They contain much liquid. When pressed out the liquid contains at first no cells, they appear finally as a delicate whitish suspension. Mitoses are easily found even 3—5 days after the fruit is cut off and placed in a Petry dish on damp blotting paper. Petry dishes with fruit ought to be placed in running tap water. A small number of cells is injured during preparation, but the material seems to be sensitive to mechanical stimuli. About 90 per cent of cells after preparation continue the division from early prophase to late telophase. Some cells slightly injured during preparation also continue mitosis. After preparation on one slide 100 or more mitoses may be found. This material is very easily and conveniently handled and it has many advantages.

TABLE V

Mitosis in *Leucojum aestivum*

P — prophase, Mk — metakinesis, M — metaphase, A — anaphase, A_0 – beginning of anaphase, Phst — phragmoplast, l — late. Times measured to the beginning of the next stage.

No of cell	Duration in min of			Appearing of nucleoli after A_0 in min.	Formation of primary cell wall in Phst		Spindle length in μ		max separation of chromosomes in A in μ	Notes
	P	Mk_1 and M	A		beginning of formation, min after A_0	formation in min	M	A_1		
175	90	35	35	120	45	5	60	70	65	
179	—	25	30	105	—	—	42	55	50	
180	—	only M 10	43	—	44	4	60	74	70	
182	—	30	39	160	34	8	40	49	46	
	—	only M 15	35	—	35	4	50	70	57	

Observations. In young cells the course of mitosis may be traced with many details. Cells are very large and amoeba-like protrusions are vigorously formed also in old cells. In old cells numerous starch grains make the observations of mitosis more difficult. Resting nuclei containing 1—2 nuceli are of the *Tradescantia* type and their structure is plainly visible. In numerous cells, mainly the young ones, chondriosomes are found (cf. Fig. 22). Chromosomes are very long and large and do not seem to be differentiated. The course of mitosis is very regular and similar to that found in other objects. In late prophase just before metakinesis the stage of mitotic contraction (Bajer 1954) may be observed very distinctly. Mitosis develops slowly, and prophase lasts more than 2 hours, metaphase at least 20, and anaphase at least 35 minutes. In Table V the time of the different stages of mitosis is given, and the graphs on Fig. 4 and Figs. 23—24 illustrate the course of anaphase

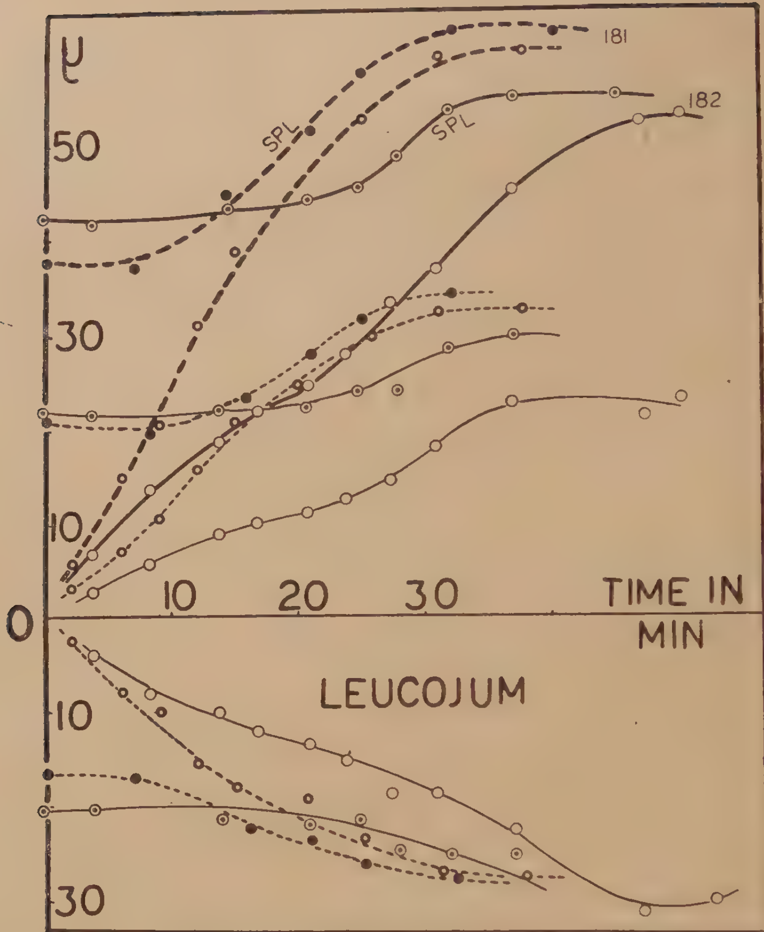


Fig. 4. *Leucojum aestivum*. Curves of chromosome movement and spindle elongation (spl) in anaphase. Curves for two sister chromosome groups, for two half spindles and resultant curves. Action of pushing body begins in middle anaphase. Chromosomes are separated much farther than in any other object (cf. distances in other graphs).

and telophase. In many cells the action of the pushing body is prominent and begins usually in middle anaphase. The formation of phragmoplast and the changes in it during primary cell wall formation resemble those described in *Haemanthus* and may be clearly observed. Primary cell wall formation begins from the edges or from the centre of the phragmoplast. Also the formation of phragmoplasts and primary cell walls may be observed between nuclei which are not daughter nuclei. In daughter nuclei nucleoli are often placed symmetrically and form as mirror reflections. Inside the spindle Brownian movements of small particles may

be observed throughaut mitosis and are similar in intensily to those described in *Haemanthus* (B a j e r 1953a).

Double structure of chromosome is seen in prophase, it is at least quadruple in metaphase, and double in anaphase. The contraction of chromosomes begins in anaphase, which may be excellently observed if cine-micrography is used. Also with the use of this method the unwinding of the coiled chromatids may be traced in detail. The structure of the kinetochor resembles those in *Haemanthus* and in metaphase kinetochores are arranged exactly in one plane.

Clivia sp.

Most species seem to be excellent material. Mitosis is very distinctly visible, chromosomes are large (cf. Fig. 26), and chondriosomes may be observed in numerous cases. Oxygen seems to be indispensible in prophases. This material is most valuable for numerous experimental studies. It is also of importance that these species flower twice a year (winter and summer).

Iris aphylla and others irises

M a t e r i a l. All fertile species are suitable for experimental studies and the best are those not too fertile. Highly fertile and completely pollinated plants develop small embryo sacs with little liquid. Such embryo sacs are more difficult to prepare than large or average ones. Regularly shaped and not deformed embryo sacs are best. Hybrids e. g. *I. interregna*, are usually half sterile and therefore not convenient, though they have large embryo sacs. Although all fertile species are suitable, such species as *I. sibirica* (Figs. 27—28), *I. graminea*, *I. prismatica* have small embryo sacs and are much more difficult to prepare. Embryo sacs are ready for experiments 3—5 weeks after flowering. The liquid containing endosperm cells ought be colourless with a delicate whitish suspension. White or yellow liquid and well developed embryos indicate that the endosperm is too old. In old endosperm, however, young cells may also be found. Usually even if the embryo sac liquid containing endosperm is pressed out very hard, cells will not be injured and will continue mitosis from early prophase to telophase. In carefully prepared preparations more than 95 per cent of dividing cells form resting nuclei, and numerous cells enter and finish mitosis after preparation. It is also remarkable that mitosis may be continued when the structure of the cytoplasm is completely destroyed, which is often observed in slightly injured cells or in hypotomic solution (Fig. 33). Cells seem to be resistant to mechanical and physical factors and in the same species of the *Iris* genus mitosis may continue in different concentrations of agar glucose e. g. *I. aphylla* and *I. xiphioides*. It will be remembered that in most of the other genera mitosis ceases when closely defined narrow limits of agar and glucose concentrations are exceeded. It is remarkable that in genus *Iris* the concentrations of agar and glucose in which the prepared cells best continue their division differ in even closely related species.

The endosperm of *Iris* species is useful in experimental studies of mitosis from prophase to telophase, on chromosome movement, primary cell wall formation, and

in studies on the action of different physical and chemical factors on mitosis in vivo. Chromosomes are of medium size and indistinctly visible in prophase. They are not convenient for investigating the chromosome structure, though such studies are possible on this material. The great advantage of *Iris* species is their different time of flowering, in consequence of which experiments with the endosperm may be continued for more than 2 months.

In most irises mitoses are easily found, both by day and by night, in embryo sacs cut off 2 or even 5 days earlier. Often in one preparation more than 100 mitoses may be found.

TABLE VI

Mitosis in *Iris*

P — prophase, Mk — metakinesie, M — metaphase, A anaphase. A_0 beginning of anaphase, Phst — phragmoplast, e — early, m — middle, 1 — late. Times measured to the beginning of the next stage.

No of cell	Duration in min of P	Duration in min of Mk$_1$ and M	Duration in min of A	Appearing of nucleoli after A_0 in min	Formation of primary cell wall in Phst: begining of formation, min after A_0	Formation of primary cell wall in Phst: formation in min	Spindle length in μ: M	Spindle length in μ: A	max. separation of chromosomes in A in μ	Notes
					Iris aphylla					
83	—	only M 15	20	45—55	26	3	18	32	25	A_0 after 2h 30 min normal resting nuclei
85	—	30 (M 10)	12	50—60	13	2	23	30	24	mitotic spindles joined
91	ve 65	only M 12	19	—	19	—	28	28	22	
94	e 55	—	19	56	27	5	21	26	22	
96	e 55	20	—	60	—	—	24	—	—	
97	e 55	18	15	75	30	—	26	31	25	
100	m 15	20	22	54	33	8	22	24	22	
107	—	23	11	65	24	6	25	33	30	
132	e 45	15		50	—	—	—	36	34	2 h 40 min after A_0 resting nuclei
133	e 45	25 (M 12)	17	40	—	—	32	38	36	
134	e 40	25	21		40	—	32	40	37	„
					Iris sibirica					
250	e 40	(only M) 10	15	15	—	—	22	30	26	cell wall did not form
250	m 40	30	—	70	—	—	—	—	28	„
253	e 60	25	17	—	—	—	—	20	—	„
254	—	30	14			—	18	20	17	„

Observations. In all studied irises the course of mitosis is very similar. Cells are much alike and differ mainly in chromosome and nuclei dimensions, and the number of nucleoli. These differences are of no importance.

The course of mitosis here described is from *Iris aphylla*. The dimensions of cells with resting nuclei, the dimensions of nuclei and the number of nucleoli vary (3—17 nucleoli have been obseved). Young cells are most suitable for experimenting. They form differently shaped amoeba-like protrusions (cf. Plate VII).

The formation of these protrusions often lasts several seconds and is easily observed especially if cine-micrography is used. In old cells numerous starch grains always appear round the nuclei or the mitotic spindle. Cytoplasmic structure is uniform and subtle. Vacuoles are either very small or there are none. Large vacuoles are a sign of demixing, and when demixing occurs cytoplasmic structure is usually destroyed and Brownian movements become very vigorous. Chondriosomes are very distinctly visible as long thin threads assembled mostly round the nuclei or the spindle, mainly at the poles.

The structure of resting nuclei is indistinct, through some seem to have a structure resembling *Tradescantia* nuclei.

In the early stages of prophase, changes in chromosomes are difficult to observe while inside the spindle all processes beginning with the contraction stage, which is very typical, may be traced in their finest details. Often however, single chromosomes may be distinguished already in prophase and their changes may be followed. The disappearance of nucleoli lasts about 15 minutes. In late prophase it is distinctly visible that the chromosome structure is at least double, and it is quadruple in metaphase. The spindle forms similarly as in *Haemanthus*. The time the different stages of mitosis last is given in Table VI. A free space with no visible structure appears in prophase round the nucleus and this is the first signs of spindle formation. This manner of spindle formations is seen in almost all endosperms as for example in endosperm of *Leucojum* and *Haemanthus*, but has not been reported in othes material, e. g. root tips where polar caps are formed. In endosperm after the free uniform space is formed — in some cells longitudinal fibrils usually arranged parallelly to the long axis of the future spindle are visible in it — typical polar caps appear. Changes in the half spindles cause the contraction stage. Immediately after the contraction stage metakinesis begins. An exact analysis of changes in the *Haemantus* mitotic spindle during its formation, of the contraction stage and metakinesis has been described elsewhere (B a j e r 1954). In *Iris* species the development of these stages is very similar to *Haemanthus* though they are shroter. The nuclear membrane disappears before the spindle is formed, but in metakinesis and in metaphase the spindle is often sharply delimilated from the cytoplasm. Also the pushing body, and the phragmoplast are often sharply delimitated from the cytoplasm. Late metakinesis is difficult to distinguish

from metaphase and in metaphase kinetochores are arranged exactly in one plane. In irises the metaphase spindle is rounded and often almost exactly ball shaped. The course of anaphase is illustrated best by graphs in Fig. 5 and Fig. 30 (B-C). The band on the curve of the chromosome movement is caused by the spindle elongation i. e. pushing body action.

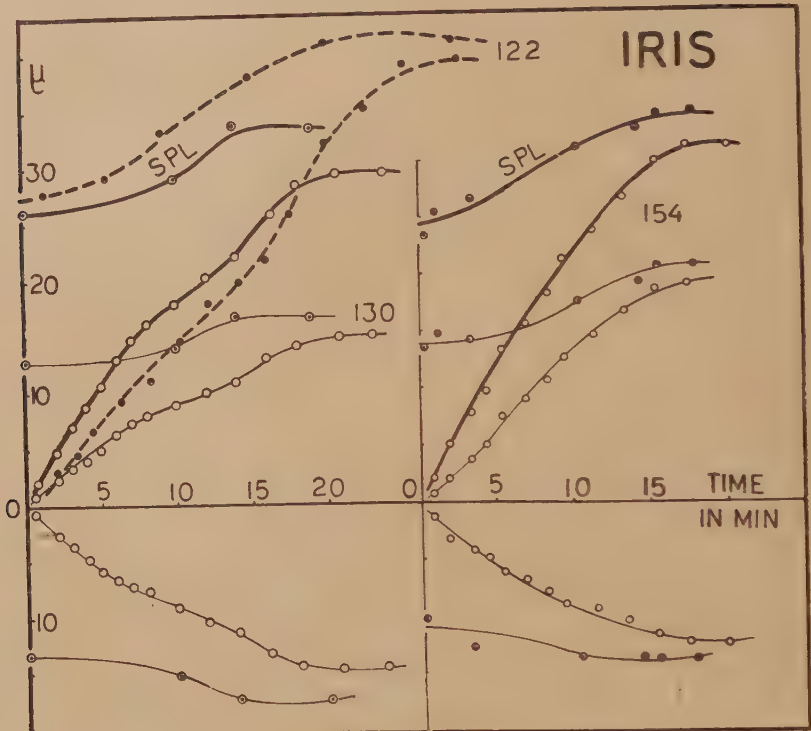


Fig. 5. *Iris aphylla.* Curves of chromosome movement and spindle elongation (spl) in anaphase. Curves for two sister chromosome groups, for two half spindles and resultant curves. Anaphase curves for cell No. 122 plotted from microphotos Pushing body action begins in early (cell No. 154) or in late (cell No. 122, 130) anaphase. In the last two cases distinct bands are seen on the rsultant curvs.

The changes in oscillation of small particles inside the spindle are of the same character and intensity as of those described in *Haemanthus*. Telophase is very short and in late anaphase the chromosomes shorten and the pushing body acts on the already partly changed chromosomes. The primary cell wall is formed from either the outer or the central parts of a well formed phragmoplast. The primary cell wall begins to form much earlier when it forms from the centre of the phragmoplast than when it forms from its borders.

Danghter nuclei are quickly formed and often 45 minutes after anaphase begins typical resting nuclei with well formed nucleoli appear. 2 hours after anaphase begins sister nuclei are usually difficult to distinguish from cells which have not divided. The course of mitosis is very regular, especially if the endosperm is young.

In mitosis spindles may be placed very near each other (Fig. 29) and even touch. Usually in these cases, and also when several mitoses are enveloped by the same lobe of cytoplasm each stage of mitosis very often begins and ends at the same time in all spindles. The two spindles on Fig. 29 look as if they are melting together to form two hexaploid nuclei; this however will not happen and 4 resting nuclei will originate. In these cells the spindle poles do not melt in anaphase and 4 poles are plainly visible (Fig. 29 B). Observations of similar cases in other endosperms indicate that the joining together of anaphase chromosome groups takes place only when spindle poles of two cells are joined together.

Secale cereale

This species is suitable several days after it flowers, the embryo sacs being then less than 3 mm long. The condition suitable for experiments is very short, some days only; soon starch grains form and prevent observations. If the endosperm is not prepared quickly the cells are damaged. The course of mitosis is distinctly visible in young endosperm and cells are of medium size.

This material is difficult to handle and not convenient for experimental study.

NOTES ON DICOTYLEDONS

In the course of the present investigation it has become evident that cotyledons in embryo sacs do not impede the studies on the endosperm. The observations on the endosperm in vivo are best just after the cotyledons appear i embryo sacs and while they are very small. In dicotyledons as in monocotyledons small embryo sacs are the main difficulty. Also in numerous dicotyledons a free supply of pure oxygen is absolutely necessary for the continuation of mitosis after preparation. This renders the dicotyledons more difficult to handle. In numerous species it is very difficult to find mitosis. This is the case for instance, in the *Cruciferae* family. In *Brassica napus* and *B. oleracea* in more than 100 endosperm preparations, i. e. more than 400 embryo sacs, we have not succeeded in finding even one mitosis, though the cells have a very normal appearance. Nevertheless numerous genera are valuable and easy to handle e. g. *Helianthus* and probably *Paeonia* (cf. Fig. 34).

In some species mitosis is far less visible than in monocotyledons, e. g. in many, though not all *Pisum* cells the refraction index of chromosomes is small and metaphase and anaphase are difficult to trace distinctly. However, in only a few of the dicotyledons used in the course of this investigation starch grains, so cumbersome in mococotyledons, have been found. The endosperm from the classical object for mitosis studies *Vicia* is very inconvenient for all detailed observations. It seems also that etherous oils (*Rutaceae,* numerous *Cruciferae*) interfere in the course of mitosis. The multiploid nuclei which are often found indicate that either the course of mitosis is often disturbed or that endomitosis often occurs.

Pisum sativum var. cukrowy karłowy.

Material. Mitoses may be found in embryo sacs with well formed cotyldons this makes it difficult to determine the size of the most convenient embryo sacs. Preparation is easy, and it is not difficult to find mitoses. Usually more than 80 per cent of cells continue the mitosis from early prophase to telophase.

TABLE VII

Mitosis in *Pisum sativum*

P — prophase, Mk — metakinesis, M — metaphase, A — anaphase, A_0 beginning of anaphase, Phst — phragmoplast, 1 — late. Times measured to the beginning of the next stage.

No of cell	Duration in min of			Appearing of nucleoli after A_0 in min.	Frrmation of primary cell wall in Phst		Spindle length in μ		max. separation of chromosomes in A_l in μ	Notes
	P	Mk_l and M	A		beginning of formation, min after A_0	formation in min	M	A_l		
276	—	20	17	60	—	—	26	35	33	cell wall did not form
278	40	20	12	110	22	10	20	23	20	
279	—	—	8	—	10	6	25	33	31	

Observations. Cells are of medium size and amoeba-like protrusions are vigorously formed. The cytoplasm often forms large lobes with many nuclei or mitotic spindles. It is astonishing how mitoses are synchronised in each such lobe of the cytoplasm. Multiploid nuclei resemble those in *Lupinus*. Chondriosomes are often distinctly visible. Cells are very resistant to preparation and few cells are damaged. Chromosomes are smaller than in *Helianthus* and larger than in *Lupinus* and have a very low refraction index, which makes observations difficult. Due to the low refraction index of the chromosomes it is very difficult to recognice middle or late prophase from anaphase, but early prophase is distinct. The different stages of mitosis are short (cf. Table

VII). In anaphase the action of the pushing body is considerable (Fig. 6). The particles oscillating inside the spindle move similarly as in *Haemanthus*. Bisquid shaped cells, if they are single and not in lobes, are often seen in late anaphase. However the cleavage furrow and abnormal division have not been observed. It has often been noticed that the primary cell wall is not formed in telophase, and this is probably influenced by the age of the endosperm and the degree of its development. Figs 38-40 illustrate the *Pisum* endosperm.

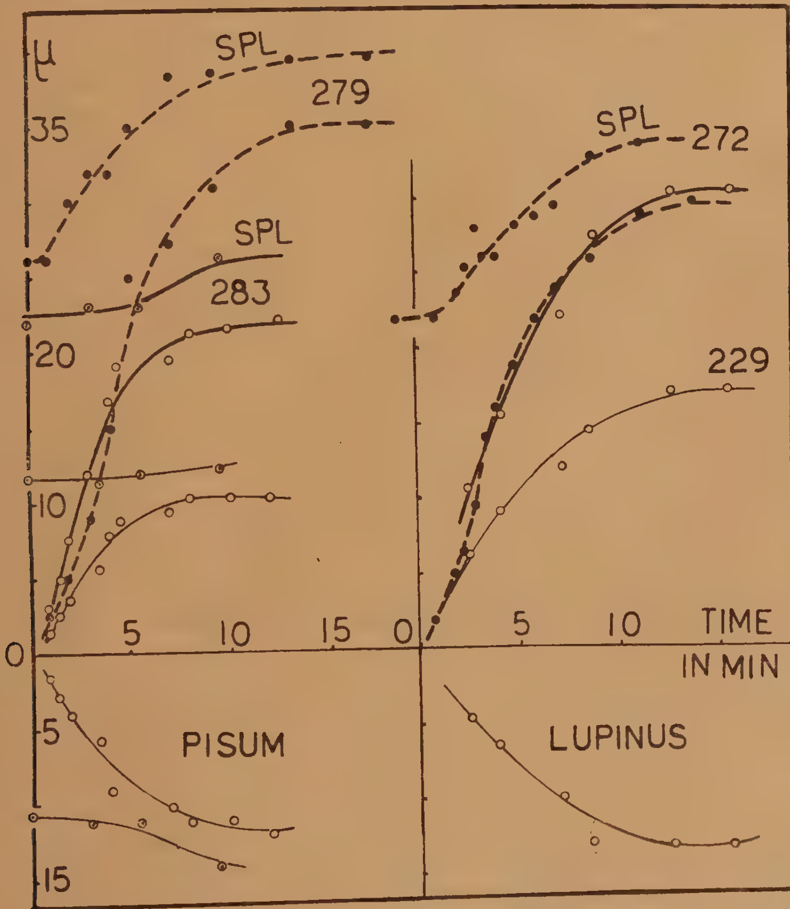


Fig. 6. *Pisum sativum* and *Lupinus polyphyllus*. Curves of chromosome movement and spindle half spindles and resultant curves. Anaphase curves for cells No. 279 and 272 plotted from microphotos. In *Pisum* (cell No. 283) pushing body action causes the shoving of mitotic spindle in anaphase in one direction, the length of the lower half spindle increases while the length of the upper one hardly changes. the pushing body begins to act at the beginning or in the middle of anaphase. In *Lupinus* (cell No. 229) changes of the spindle length have not been noted.

Lupinus polyphyllus Lind.

Material. Suitable siliquae are 30-45 mm long and the embryo sacs are 4-4.5 mm long and approximately 2,5 mm across. In suitable embryo sacs small cotyledons are found. Preparation is very easy, but it is extremly difficult to find mitosis We have not succeed to establish the percentage of cells which continue mitosis as we have observed only a few cells in mitosis; of these all divided to telophase.

Observations. Cells are very small and form, though not always, amoeba-like protrusions. Mitotic stages after metakinesis are distinctly visible. The very small cells make it difficult to distinguish early from middle or late prophase. Chromosomes have a high refraction coefficient and in anaphase the movement of single chromosomes may be sometimes traced. The chromosomes are undoubtedly the smallest we have observed in the course of the present studies. Anaphase is very short, lasting about 6 minutes. The action of the pushing body is prominent. Graphs in Fig. 6 and Fig. 36 (A-G) illustrate the course of anaphase in *Lupinus*.

Resting nuclei are very small (Fig. 37) and it is difficult to say anyhing about their structure. The number of the nucleoli in the nucleus is changeable. Numerous high multiploid nuclei (Fig. 35) are found. Such nuclei may be 20 and more times larger than normal resting nuclei.

Vicia faba

The preparation of embryo sacs of this species is similar to that of *Pisum*. Only a few cells continue mitosis. The refraction coefficient of the chromosomes is low and chromosomes are seen very indistinctly (cf. Fig. 41 A-C). Multiploid nuclei are numerous and in some cases a process similar to endomitosis has been observed. It has not been possible to establish whether it really is endomitosis. *Vicia faba* is one of the most inconvenient species studied in the present work. However, preliminary observations of the other species of the *Vicia* genus seem to indicate that they are a better material than *Vicia faba*.

Borago officinalis L.

Fruits of the proper age are pale-green in colour. It is more conveniant not to cut out the embryo sacs, but after cutting off the upper part of the fruit, to press out the liquid together with the endosperm. Cells are very small and form amoeba-like protrusions. Resting nuclei contain varying numbers of nucleoli. Chromosomes are very small with a low refraction coefficient. Prophase is difficult to observe but from metaphase, mitosis may be traced without difficulty. Fig. 43 illustrates the course of anaphase. Mitoses are very difficult to find.

Helianthus annuus L.

Material. Embryo sacs with very small cotyledons contain a colourless liquid with endosperm cells. Embryo sacs with large cotyledons or without them are not suitable for experiments. It is most important to chose embryo sacs of a proper age. Not many embryo sacs should be pressed out into one preparation. Mitoses are easily found but there are only a few in each preparation. Most cells continue mitosis from prophase.

Obsevations. Cells both with and without amoeba-like protrusions are found. Mitosis is distinctly visible and chromosomes are

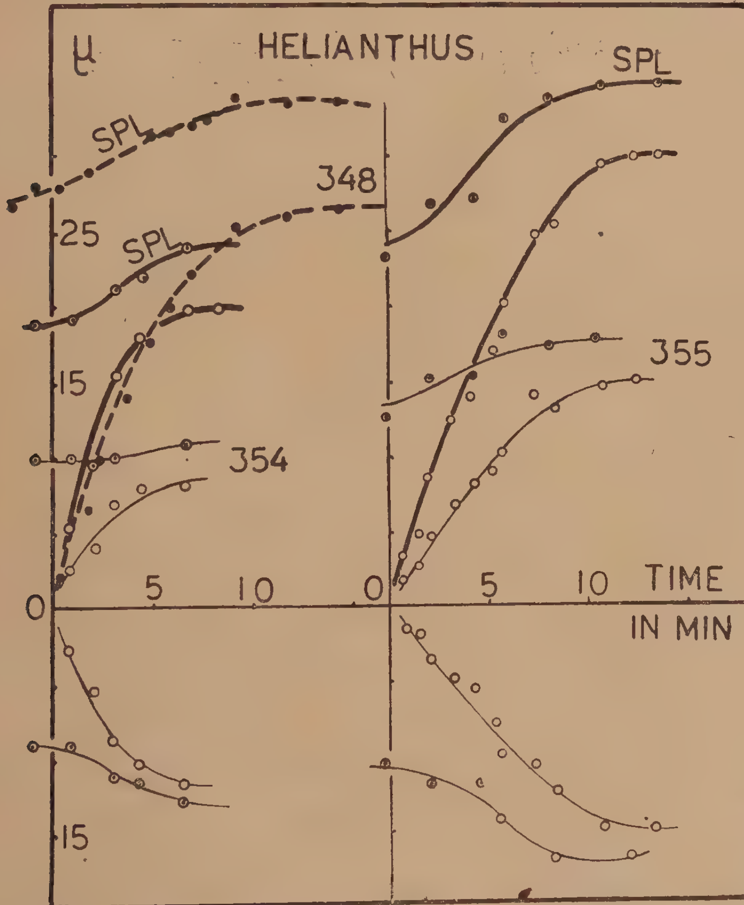


Fig. 7. *Helianthus annuus*. Curves of chromosome movement and spindle elongation (spl) in anaphase. Curves for two sister chromosome groups, for two half spindles and resultant curves. Anaphase curves for cell No. 348 plotted from microphotos. Action of the pushing body begins in early anaphase. Similarly as in previous curves the asymmetry of curves for two sister chromosome groups is caused by the shoving in one direction of the mitotic spindle.

smaller than in *Iris* but larger than in *Pisum*. During mitosis cells change their shape considerably (cf. Figs. 44-45). The different stages of mitosis are short and are given in Table VIII. The action of the pushing body is always visible. The primary cell wall begins to form from the centre of the phragmoplast. The course of anaphase is illustrated by Fig. 44-45 and graphs in Fig. 7. A distinctly visible dark band in the middle of the phragmoplast is the first sign of cell wall formation. In some cases after the cell wall forms the pushing body o the phragmoplast shove the daughter chromosome groups toward the poles.

As many as 9 nucleoli have been observed in one resting nucleus.

TABLE VIII

Mitosis in *Helianthus annuus*

P — prophase, Mk — metakinesis, M — metaphase, A — anaphase, A_0 beginning of anaphase, Phst — phragmoplast, 1 — late. Times measured to the beginning of next stage.

No of cell	Duration in min of			Appearing of nucleoii after A_0 in min.	Formation of primary cell wall in Phst		Spindle length in μ		max. separation of chromosomes in \ in μ	Notes
	P	Mk and M	A		beginning of formation, min after A_0	formation in min.	M	A_1		
348	—	15	13	45	16	3,5	26	34	27	
349	30 40	15			23					
350	50	20	13	—	14	5	02	28	24	
354	—	18	8	—	13	4	19	26	22	
255	—	16	12	—	22	7	21	24	30	

DISCUSSION

In our opinion the series of experiments presented in this paper are sufficient to qualify the endosperm as a valuable general material for observations of mitosis in vivo in mono- and dicotyledons. We are also convinced that the endosperm of numerous species is very convenient for studies on the influence of the physico-chemical factors on mitosis. The great advantages of endosperm are evident and have already been enumerated (Bajer 1953 b). The clarity with which the different processes in the endosperm are visible is not equaled by any other plant material. Not only for studies on mitosis but also for those on phragmoplast problems, and primary cell wall formation, endosperm is in many important respects the best plant material. Of course not in all species is the endosperm equally convenient. On the whole, monocotyledons are better material than dicotyledons, though it is possible that among dicotyledons numerous species are excellent. Our present results indicate that *Iris*, *Leucojum*, *Haemanthus* and *Clivia* are the most con-

venient material; also rather convenient are the *Ornithogalum*, *Asparagus*, *Zephyranthes*, *Pisum* and *Helianthus* genera, *Zephyranthes* being the easiest of these four. It is noteworthy that *Iris*, the material used by J u n g e r s (1930) in his research, appears now so suitable for studies in vivo and that we have observed in *Iris* almost all the facts decribed so carefully by him on fixed material.

Objections may be raised that endosperm degenerates in the later stages of its development. This however is not always the case, and even when it does degenerate in the later stages, it is studied in vivo while still young, and then the degenerating factors seem to have no effect There are no essential differences in the course of mitosis in young and in old endosperm, and only starch grains make the observations of old cells more difficult. Also the mechanical conditions in old endosperm cells are more inconvenient than in young ones. Furthermore it may also be raised that the endosperm tissue is triploidal. However it is not probable that the triploidy of the endosperm can influence, in any important respect, the essential course of mitosis, though the duration and some mechanical conditions of mitosis may be changed. These are not sufficient reason against using the endosperm for studies on cell division.

Young endosperm is a typically meristematic tissue, and the study of the differences in the course of mitosis as it ages, though not important, may throw some light on the mechanism of mitosis.

The course of mitosis is similar in all objects studied. Prophase has been observed in detail in some objects only. In all plants with both large and small chromosomes mitotic contraction is to be observed in late prophase. In this stage the action of kinetochores begins. An exact analysis of this stage and sufficient evidence to support this statement will be given elsewhere.

From Tables II-VIII and graphs of the present paper it becomes evident that a correlation between the duration of the different stages of mitosis and the dimensions of the chromosomes exists. This correlation is most pronounced in anaphase, which is the stage analysed most exactly. It seems even that the time of anaphase is more or less proportional to the dimension of chromosomes. However, to establish the exact nature of this proportionality, it is necessary to work out mathematically the data given in this paper. In anaphase the action of the pushing body has varying intensities. It is noteworthy that the activity of the pushing body changes in the different cells of one species and seems to be more prominent in young than in old ones. The action of the pushing body may begin at the beginning or in the middle of anaphase. In the latter case the curve of the chromosome movement becomes

characteristically shaped due to the acceleration of this movement in middle anaphase.

Several *Iris, Asparagus* and *Leucojum* cells have been examined with the use of cine — micrography. Such an examination explains quite satisfactorily the problem of asymmetric curves of two daughter chromosome groups in anaphase. This type of graph has been used in most of our previous papers. From all previous observations it appears that perfectly symmetrical curves are extremely rare. Often curves are characteristically displaced in one direction (cf. graphs in Figs to this paper), which usually does not appear on the resultant curve. Cine — micrographic analysis of dividing cells has shown that this results from the shoving of the whole anaphase spindle in one direction by the action of the pushing body.

In the endosperm of species with large or medium chromosomes. the chromosome structure is often distinctly visible in vivo. In very large chromosomes *(Leucojum, Haemanthus)* each of the prophase chromatids seems to be composed of several elements. Prophase chromosomes may have „lamp-brush“ structure which has lately been described by different authors (Huskins 1948, Galinsky 1949, Mota 1952). In metaphase or very late metakinesis it is well visible as chromosomes split longitudinally into two separate elements. Only the kinetochore does not split and its structure in metaphase seems to be very similar to that described by Lima de Faria (1949) in prophase, trough more contracted. In species with very large chromosomes quadruple structure of metaphase chromosomes is very distinctly visible. This indicates that the division of chromosomes into four distinct elements takes place between prophase and metaphase.

In all species described in this paper the observation of the Brownian movements of small particles inside the spindle fully support the data obtained on *Heamanthus* (Bajer 1953b).

The method used in the course of the present work is simple, quick and may be further improved. However, it appeared that in some species most of the cells die in prophase. The reason of this is probably — here as in animal tissue — the lack of oxygen necessary for prophase to continue (Bullough 1952). A free supply of oxygen in endosperm of *Haemanthus* makes possible the observations of normal mitosis even 24 hours after preparation. Beginning with metakinesis the supply of oxygen does not seem to be necessary, because usually metakinesis is continued to telophase. The observations obtained show that a vigorous development of bacteria accelerates the death of prepared cells. Sterile conditions however are not necessary in experiments lasting less that 10 hours i. e. in most experimental studies.

The possibilities of experimental treatment of endosperm in vivo are diverse. The vitality of prepared endosperm of some species is astonishing. In *Haemanthus*, for instance, in pure oxygen mitotic spindles may be experimenttally flattened to 5-6 μ, while the thickness of the chromosomes is about 4 μ. In these abnormal conditions, where chromosomes form one layer, mitosis may be continued from early prophase to resting nuclei.

In our opinion experimental studies on endosperm may solve numerous most important problems in the mechanism of mitosis, while further improvements in the methods used will prolong the life of prepared cells. It is even possible that permanent tissue cultures similar to those of animal tissues will be obtained from endosperm.

SUMMARY

1. With a simple method described in detail, the advantages of numerous species for observations of mitosis in vivo are examined. The best and the easiest objects are: *Iris, Leucojum, Clivia*, and *Haemanthus*, also: *Zephyranthes, Ornithogalum, Asparagus, Helianthus*, and *Pisum*, are convenient. *Veratrum, Lupinus, Vicia* and *Borago* are very inconvenient.
2. On the whole monocotyledons are more suitable than dicotyledons and objects with small chromosomes are more difficult than those with large or medium ones.
3. Mitosis in objects with small chromosomes is shorter than in those with large ones. The time of anaphase, the stage examined most carefully, seems to be proportional to the dimensions of chromosomes.
4. Observations on pushing body action, mitotic contraction, and living chromosome structure are reported.
5. Endosperm is suggested as material for studies on mitosis and related problems.

Acknowledgements

The authors wish to express their very sincere gratitude to Prof. Dr W. Szafer, the Director of the Botanical Garden, to Prof. Dr S. Ziobrowski the Head of the Plant Breeding Institute for plant material, which they have kindly supplied and to Prof. Dr Z. Grodziński the Head of the Institute of Comparative Anatomy for providing us withe phase contrast equipement.

REFERENCES

Bajer, A., 1950. Electrical forces in mitosis. I. Acta Soc. Bot. Pol. 20 : 709—737.

Bajer, A., 1953a. Absolute viscosity and living mitotic spindle structure. Ibid. 22 : 331-348.

Bajer, A., 1953b. Endosperm — valuable material for experimental studies of mitosis in vivo. Ibid 22 : 475-482.

Bajer, A., 1954. Cine-micrographic studies on mitosis in endosperm. Ibid 23 :

Bajer, A. and J. Molè-Bajer, 1953. Influence of extreme temperatures on mitosis in vivo. I. Ibid. 22 : 267-298.

Becker, W. A., 1938. Recent investigations in vivo on the division of plant cell. Bot. Rev. 4 : 446-472.

Bullough, W. S., 1952. The energy relations of mitotic activity. Biol. Rev. 27 : 133-168.

Darlington, C. D., and E. K. Janaki Ammal, 1945. Chromosome atlas of cutivated plants. G. Allen and Unwin. London.

Galinsky, J., 1949. The effect of certain phosphates on mitosis in *Allium* roots. Journ. Hered. 40 : 289-295.

Huskins, L. C., 1948. Segregation and reduction in somatic tissues. I. Initial observations on *Allium cepa*. Journ. Hered. 39 : 311-325.

Jungers, V., 1930. Figures caryocinetiques cloisonnement du protoplasme dans l'endosperme d'*Iris*. La Cellule 40 : 291-354.

Lima de Faria, A. 1949. The structure of the centromere of the chromosomes of rye. Hereditas 35 : 289-295.

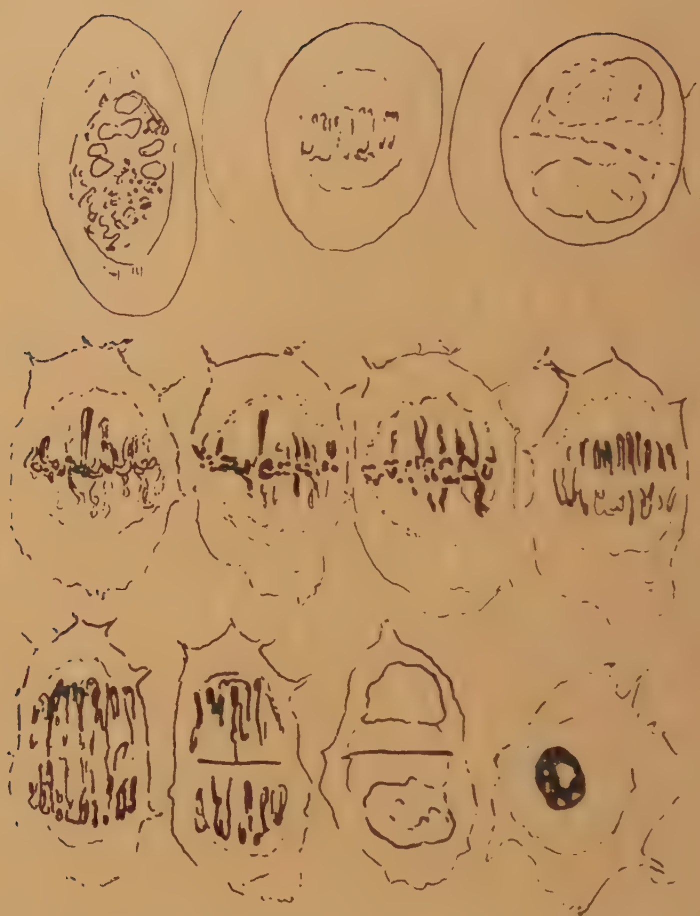
Mota, M., 1952. The action of seed extracts on chromosomes. Arquivo de Patolog. 24 (3) : 336-357.

Roskin, G. I., 1951. Mikroskopiczeskaja Tiechnika. Sowietskaja Nauka. Moskwa

Wada, B., 1941. Über die Sipndelfigur bei der somatischer Mitose der Prothallium-zellen von *Osmunda japonica* Tunb. in vivo. Cytologia 11 : 353-368.

Wada, B., 1950 The mechanism of mitosis based on studies of the submicroscopic structure and of the living state of the *Tradescantia* cell. Cytologia 16 : 1-26.

PLATES I — X



Ornithogalum umbellatum

Fig. 8. A — prophase, B — early anaphase. C — late telophase with nuclei and without nucleoli. In A nucleoli are visible, outlines of the spindle are not distinct. Note the change of the cell shape and the lack of protrusions. A — 0 min. B — 47 mins after A, C — 1 h 20 min after A.

Fig. 9. A to G the course of anaphase. In metaphase (A) kinetochores are in one plane, anaphase is very regular, E to F — these though similar are not chromosomal bridges, G — noramal nuclei. A — 0 min, B — 1 min after A, C — 3 mins after A, D — 7 mins after A, E — 13 mins after A, F — 19 mins after A, G — 32 mins after A.

Fig. 10. Cell with resting nucleus, nucleolus with distinctly coacervate structure.


8A
B
C
20μ ORNITHOGALUM
9A
B
C
D
E
F
G
10

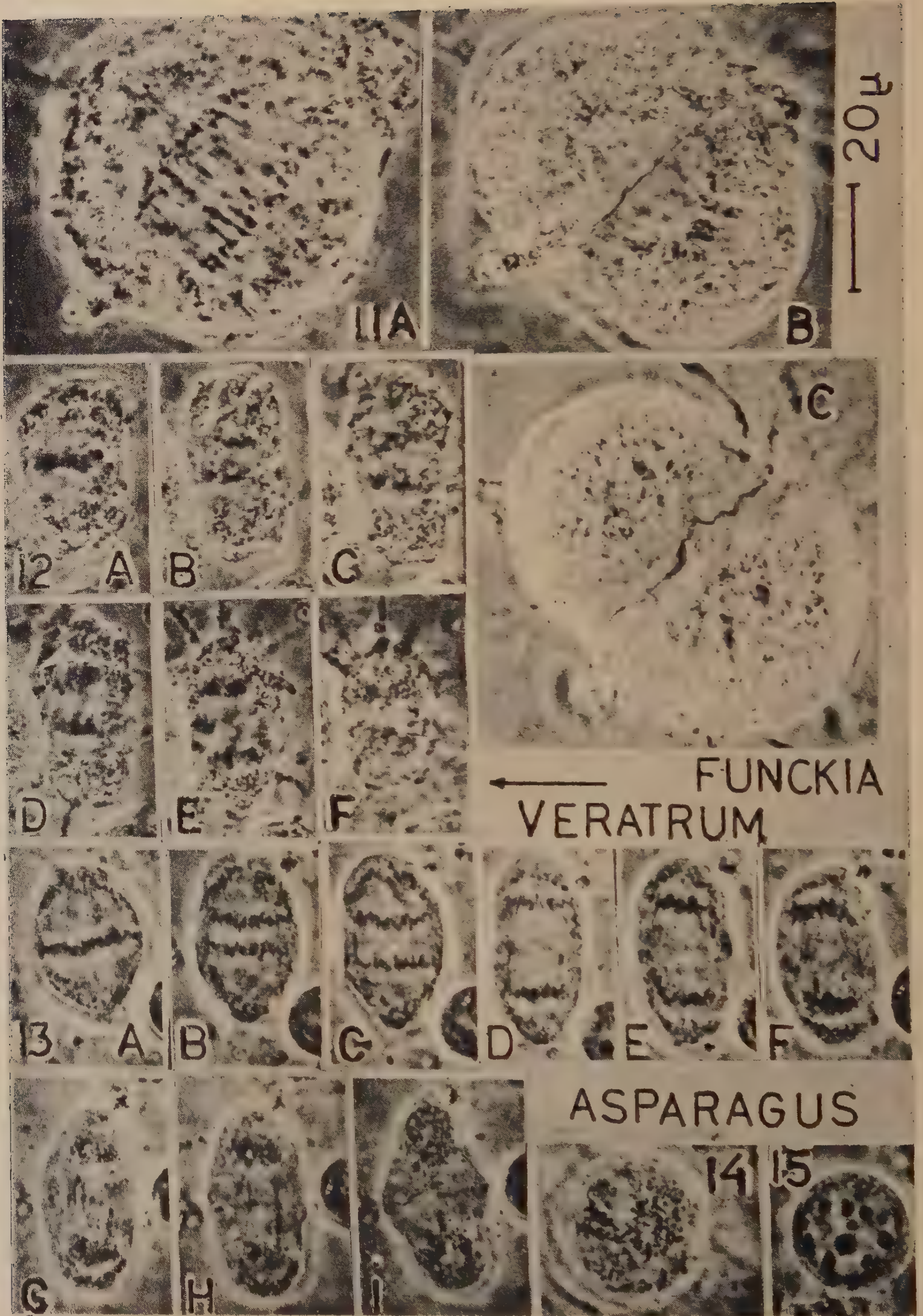

20µ
11A
B
C
12 A
B
C
D
E
F
FUNCKIA
VERATRUM
13 A
B
C
D
E
F
G
H
I
ASPARAGUS
14
15



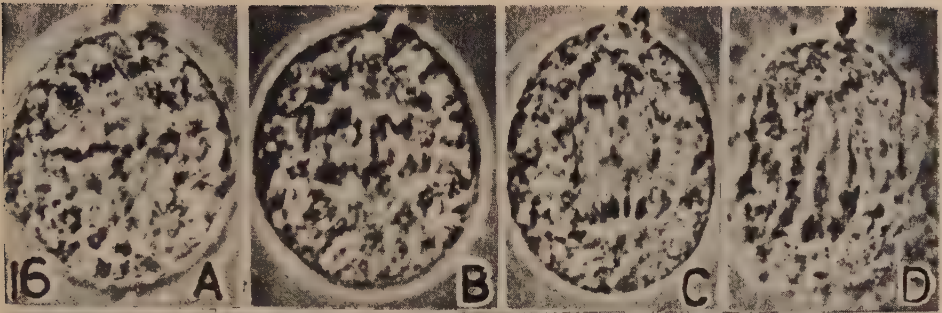
Fig. 11. *Funckia subcordata.* A — anaphase, B — telophase with well formed phragmoplast, C — resting nuclei with nucleoli. Numerous starch grains make observations difficult. A — 0 min, B — 22 mins after A, C — 55 mins after A. Fig. 12. *Veratrum nigrum,* metaphase, anaphase and telophase. Low refraction index of chromosomes and coarse cytoplasmic structure prevent direct observations. Compare the course of anaphase with that in *Asparagus* of which the chromosomes are almost of the same dimensions. Note that amoeba-like protrusions begin to form vigorously in telophase (E — F). A — 0 min, B — 9 mins after A, C — 12 mins after A, D — 16 mins after A, E — 23 mins after A, F — 53 mins after A. Figs. 13—15. *Asparagus pseudoscaber.* Fig. 13. Metaphase, anaphase and telophase, in I almost resting nuclei. Note the pushing body action. Clear structureless space around the danghter chromosome groups in telophase is distinct (*F*), this is the beginning of nuclei formation (cf. text). In G first stage of cell wall formation. A — 0 min, B — 5 mins after A, C — 5,8 mins after A, D — 7 mins after A, E — 8,5 mins after A, F — 9 mins after A, G — 22,5 mins after A, H — 25 mins after A, I — 39,5 mins after A. Fig. 14. Middle anaphase seen from one of poles; stage similar to Figs. 13. D. Note, the dimensions of the chromosomes. Fig. 15. Almost bare resting nucleus with 13 nucleoli (not all are distinctly visible).

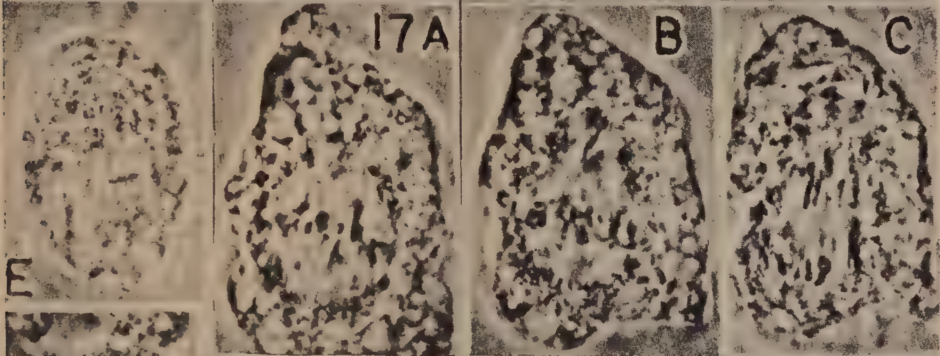


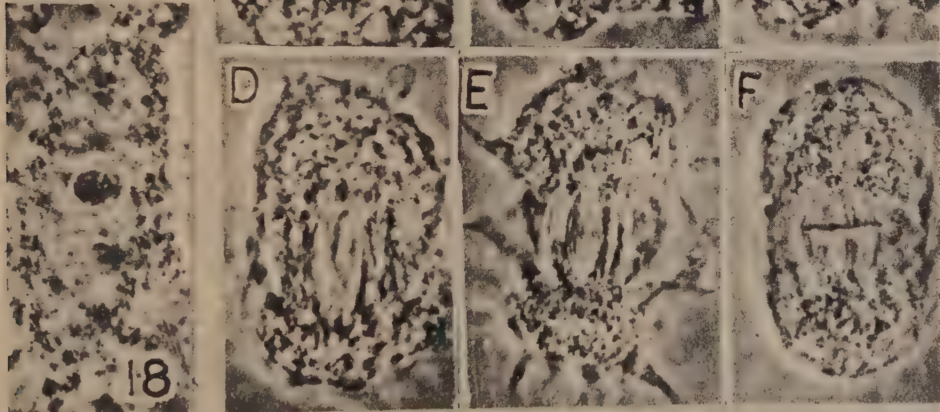
Figs. 16—18. *Agapanthus umbellatus*. Fig. 16. Metaphase, anaphase and telophase. Note the vigorous formation of amoeba-like protrusions in telophase (16 D and 17 E—D).

Fig. 16. A — 0 min, B — 18,5 mins after A, C — 29,5 mins after A, D — 39,5 mins after A, E — 67,5 mins after A, Fig. 17, A — 0 min, B — 10 mins after A, C — 20 mins after A, D — 31 mins after A, E — 38 mins after A, F — 1 h 23 mins after A.

Fig. 19. *Zephyranthes candida*. A — prophase with nucleoli, B — metaphase and C — telophase with cell wall not yet formed A — 0 min, B — 1 h 10 mins after A, C — 1 h 32 mins after A.


16
A
B
C
D


E
17A
B
C


18
D
E
F

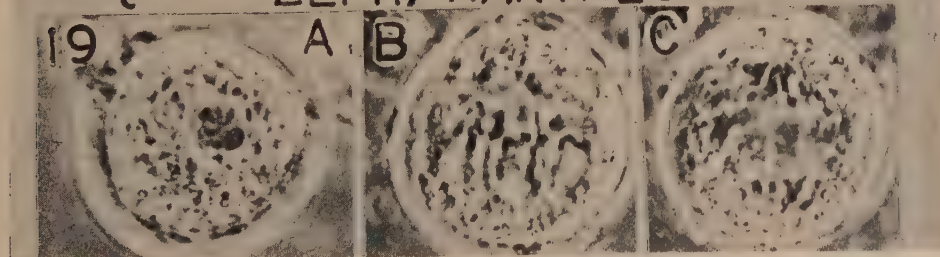

20 μ
AGAPANTHUS
ZEPHYRANTHES
19
A
B
C

PLATE IV.

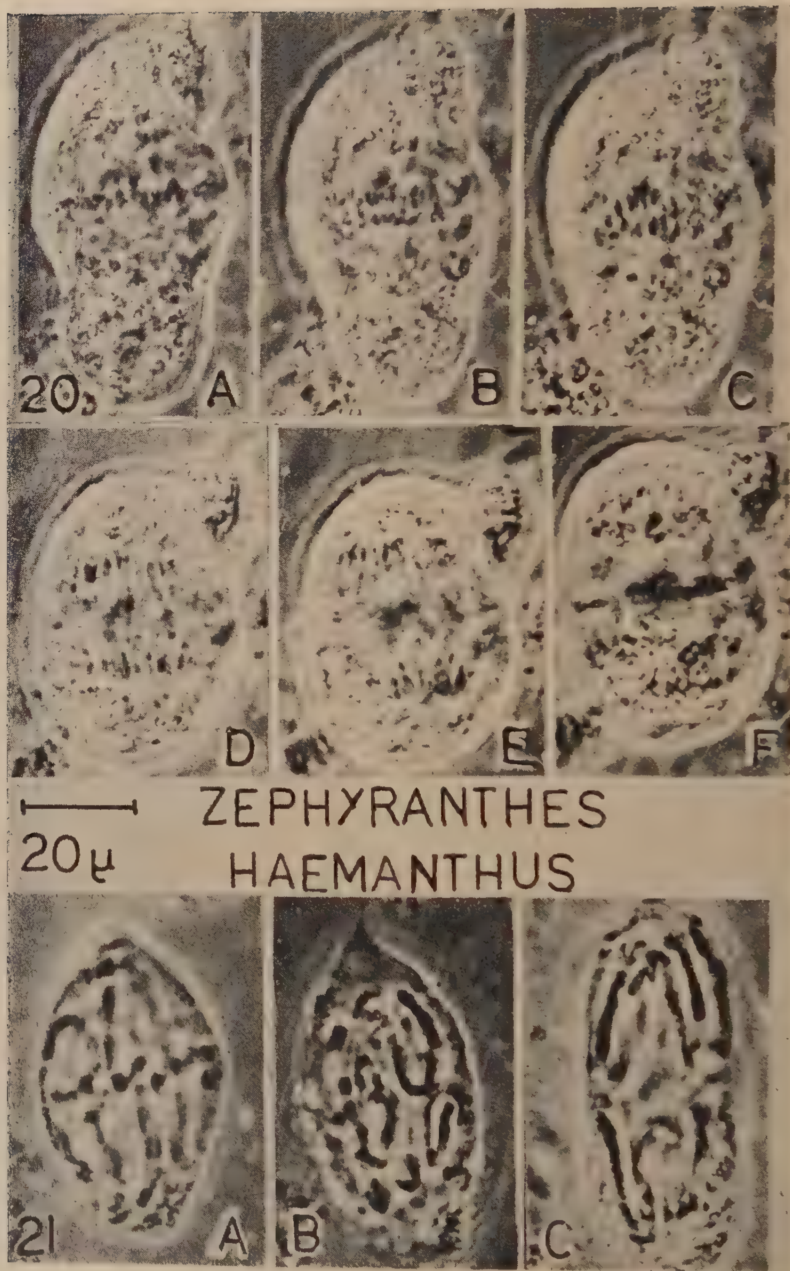


PLATE IV

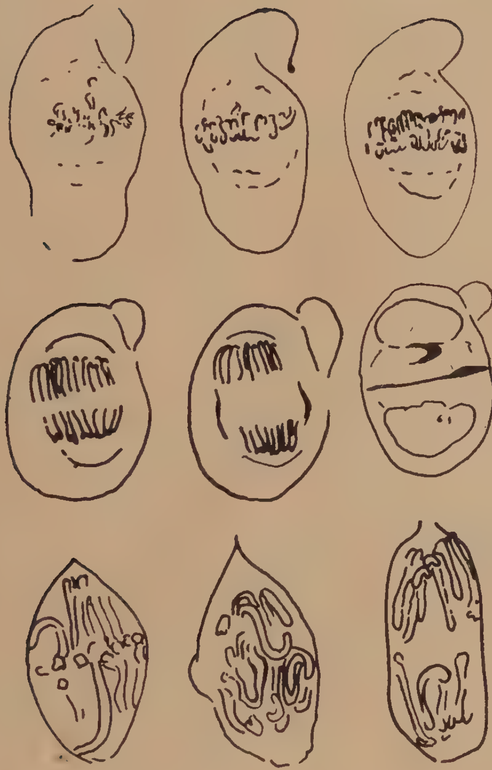
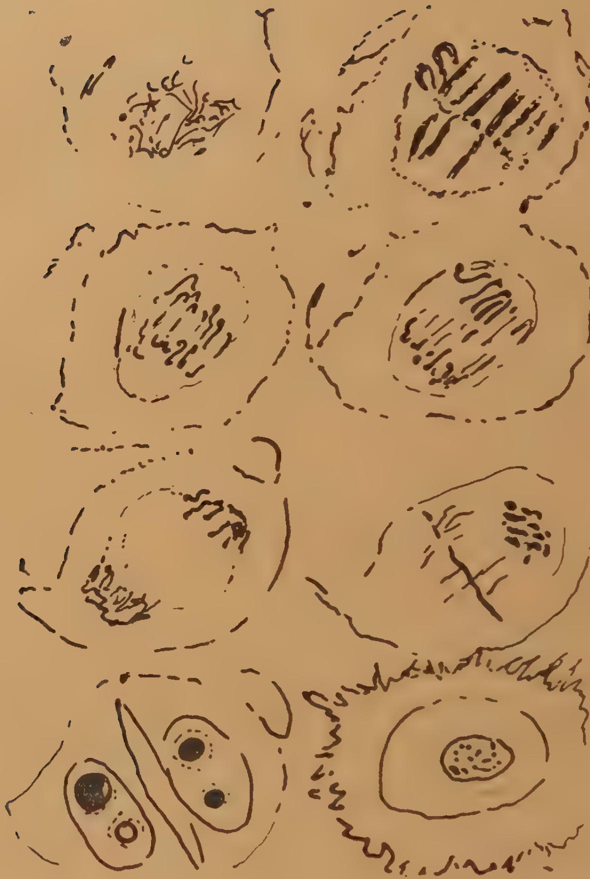


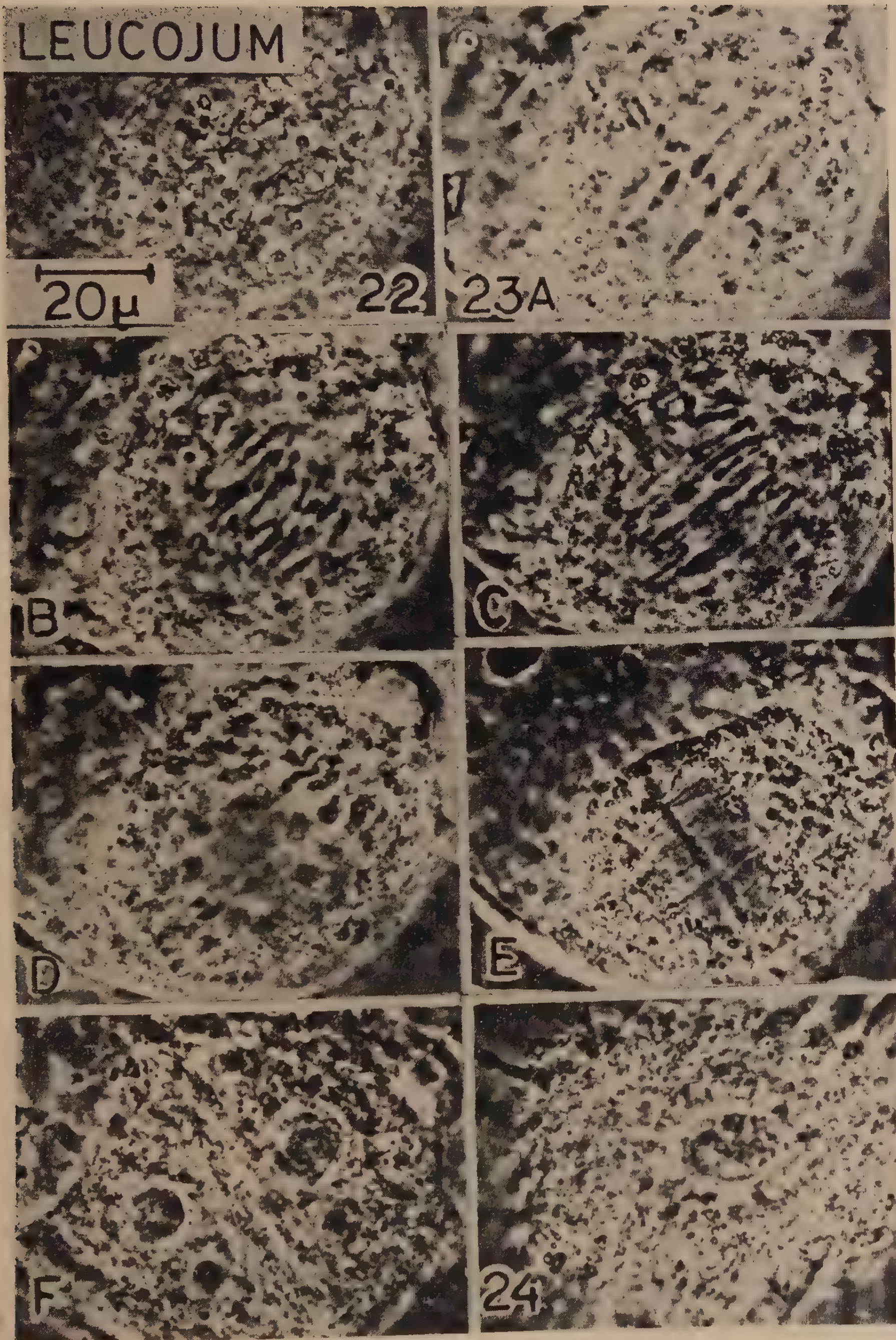
Fig. 20. *Zephyranthes candida*. Metaphase, anaphase and telophase with a cell wall. A — 0 min, B — 3 mins after A, C — 5 mins after A, D — 11 mins after A, E — 15 mins after A, F — 30 mins after A.

Fig. 21. *Haemanthus puniceus*. Almost bare spindle in metaphase and anaphase. Cell is very small. A — 0 min, B — 1 h 13 mins after A, C — 2 h 4 mins after A. Numerous microphotos of mitosis in *Haemanthus* are given in other papers (B a j e r 1953, a, b, 1954).



Leucojum aestivum

Figs. 22—23. illustrate one cell. Cell is old, but chondriosomes are well visible as long thin threads (Fig. 22). Fig. 23: A — metaphase, anaphase and resting nuclei (F- with nucleoli arranged symmetrically as mirror reflections. A — 0 min, B — 8,5 mins after A, C — 34 mins after A, D — 54 mins after A, E — 1 h 4 mins after A, F — 12 h later.


LEUCOJUM
20μ
22
23A
B
C
D
E
F
24

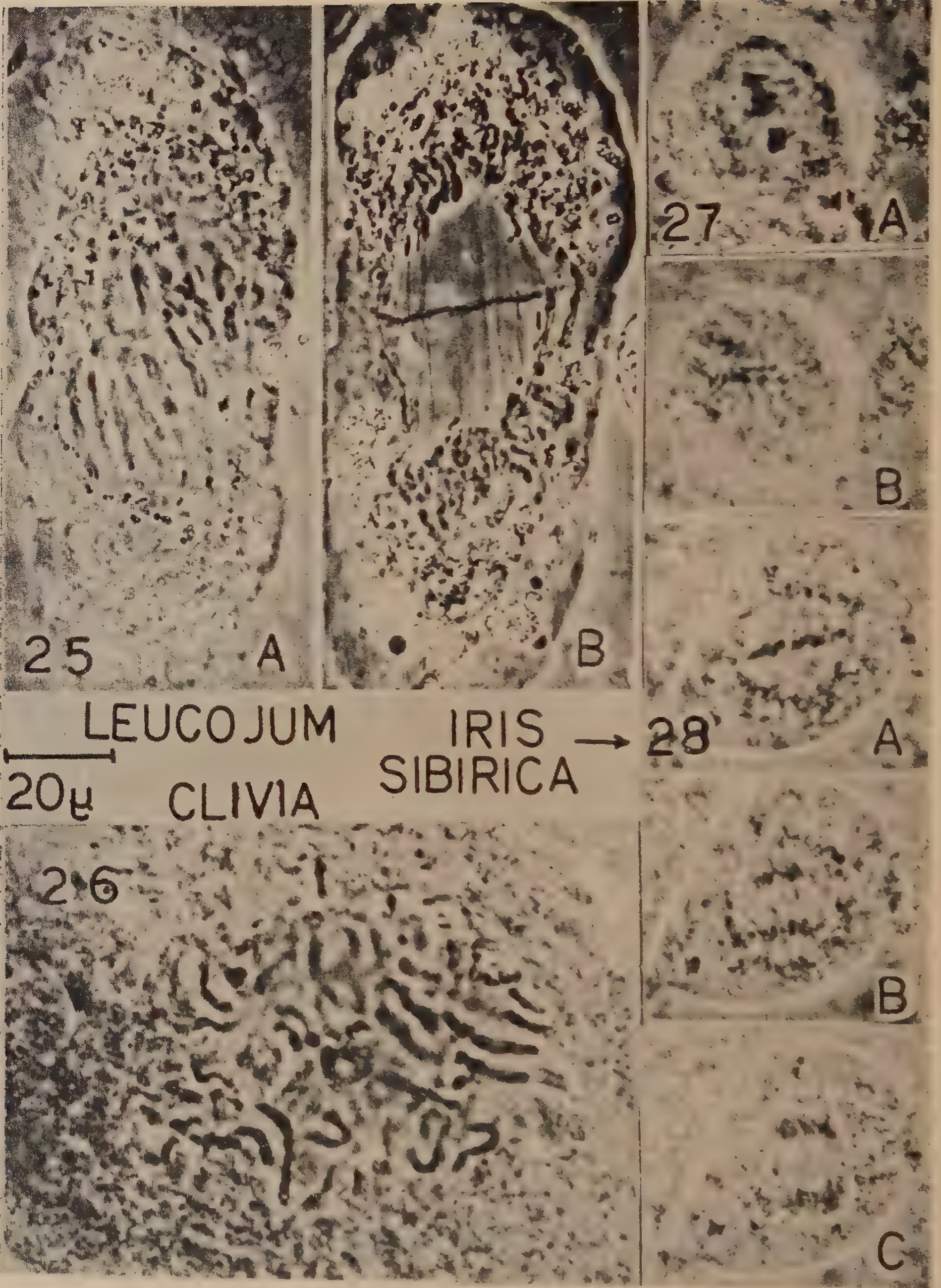

25
A
B
27
A
B
LEUCOJUM
IRIS
SIBIRICA
28
A
20μ
CLIVIA
26
B
C



Fig. 25. *Leucojum aestivum.* A — metakinesis; note the numerous chromatids coiled round each other. B — early telophase. A — 0 min, B — 43 mins after A.

Fig. 26. *Clivia nobilis.* Cell in prophase. Two nucleoli.

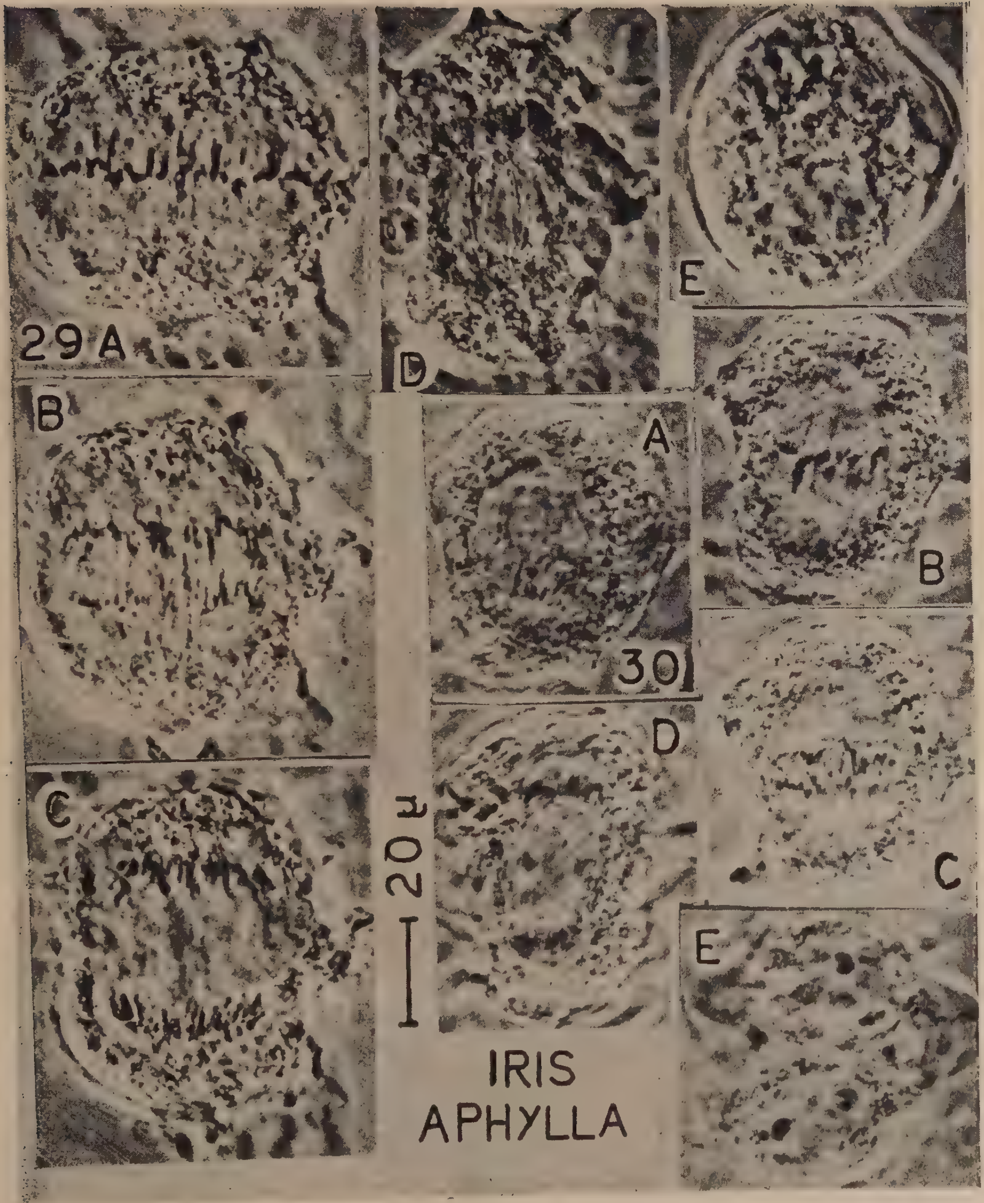
Figs. 27—28. *Iris sibirica.* Fig. 27. A — prophase with nucleoli B — metaphase seen from one of the poles. Note the dimensions on the chromosomes. A — 0 min. B — 1 h 2 mins after A. Fig. 28, Metaphase, anaphase and early telophase. A — 0 min, B — 10 mins after A, C — 28 mins after A.

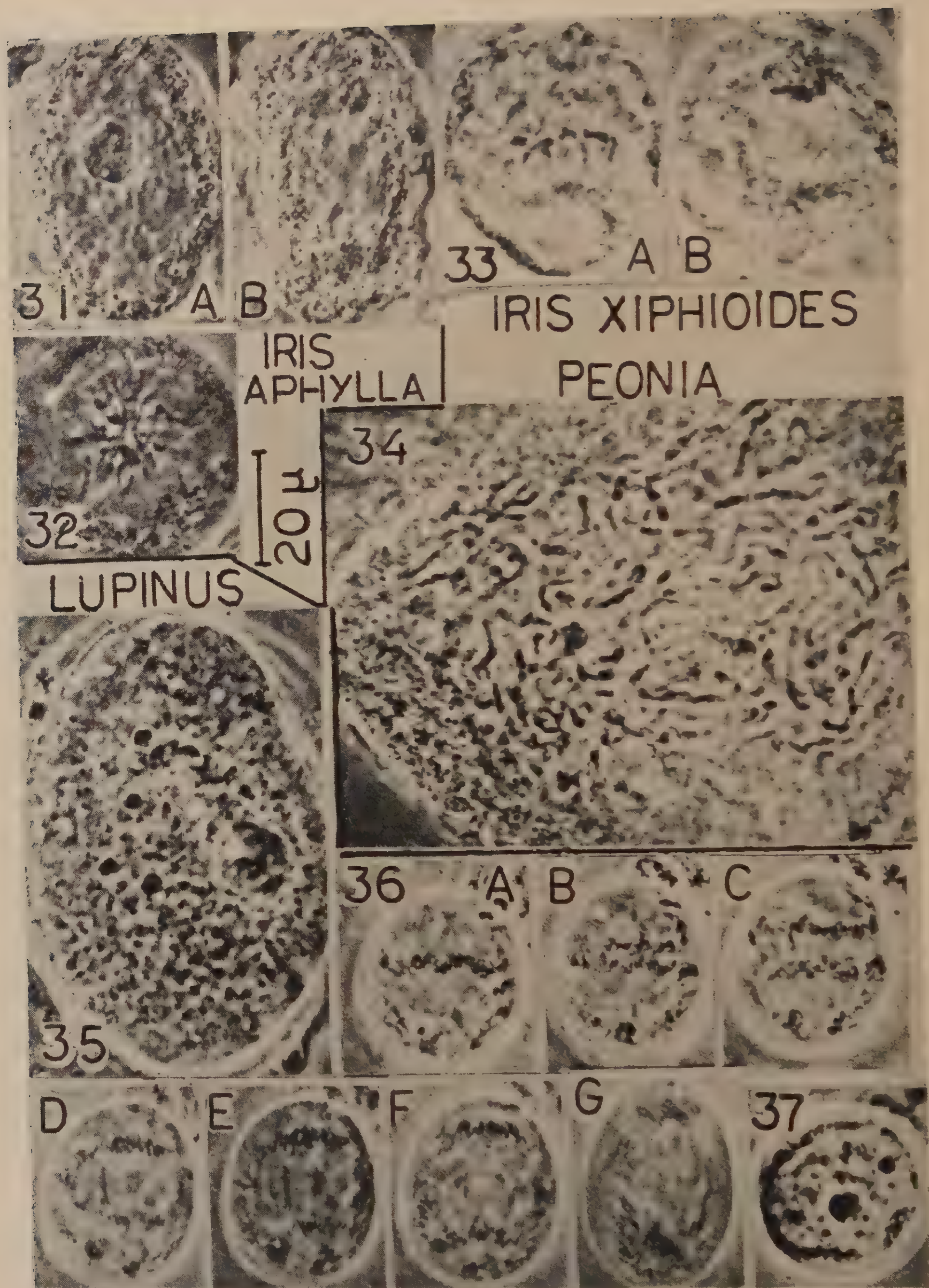


Iris aphylla

Fig. 29. Anaphase in two spindles tuching each other, see in text. A — four spindle poles visible (they are also visible in B), C and D it seem that anaphase of these two spindles have joined, however this is not the case, as 4 nuclei are seen in E. A — 0 min, B — 18 mins after A, C — 38 mins after A, D — 41 mins after A, E — 3 h 20 mins after A.

Fig. 30. A — prophase with nuclear membrane, B — metaphase, C—D — early and late anaphase, and E — resting nuclei with nucleoli. A — 0 min, B — 27 mins after A, C — 44 mins after A, D — 1 h 3 mins after A, E — 4 h after A.


29 A
B
C
D
E
A
30
D
B
C
E
20 μ
IRIS
APHYLLA


31 A B
IRIS APHYLLA
33 A B
IRIS XIPHIOIDES
PEONIA
34
32
20 μ
LUPINUS
36 A B C
35
D E F G 37



Figs. 31—32. *Iris aphylla.* Fig. 31. A — prophase with nucleoli and nuclear membrane, and B — telophase, A — 0 min, B — 1 h 11 mins after A.

Fig. 32. Metaphase plate seen from one of the spindle poles, compare the chromosome dimensions with those of *Iris sibirica* (Plate VI).

Fig. 33. *Iris xiphioides* A — metakinesis, and B — telophase with hypotonic agar with glucose (0,5 and 3 per cent) Structure of cytoplasm is distroyed and large vacuoles have appeared, pushing body action is slight, it is directed to its boarders and not to the poles. A — 0 min, B — 14 mins after A.

Fig. 34. *Paeonia officinalis.* Large multiploid cell in prophase.

Figs. 35—37. *Lupinus polyphylus.* Fig. 35. Large multiploid cell with small and large nucleoli; compare the dimensions of this cell with Fig. 37 which shows resting nucleus of normal size. Fig. 36 metaphase, anaphase and early telophase. A — 0 min, B — 1 mins after A, C — 2 mins after A, D — 3 mins after A, E — 4 mins after A, F — 5 mins after A, G — 12 mins after A.

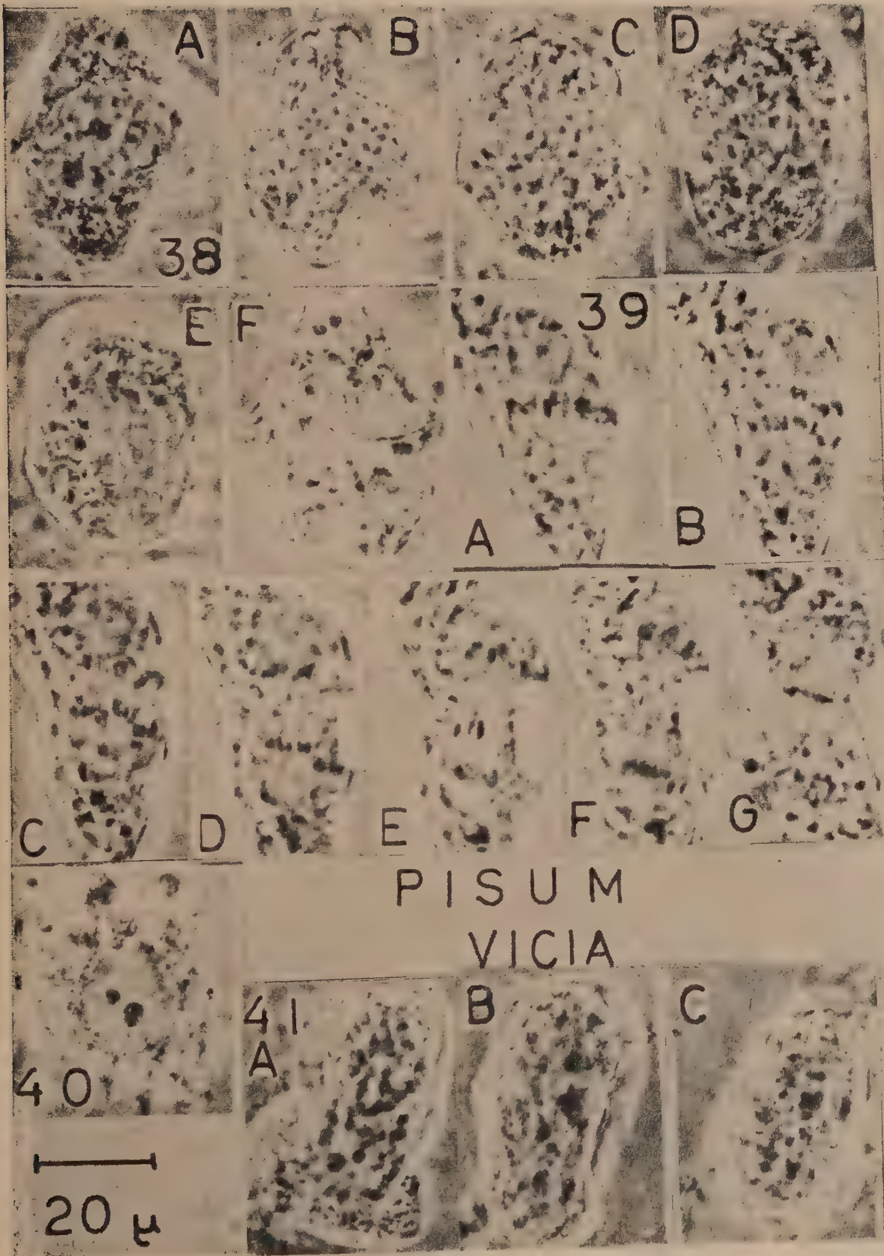


Figs. 38—40. *Pisum sativum*. Fig. 38 A — prophase with nucleoli and nuclear membrane, B — later stage of prophase, C — metakinesis, D and E — anaphase, F — resting nuclei with nucleoli. A — 0 min, B — 13 mins after A, C — 38 mins after A, D — 50 mins after A, E — 1 h 8 mins after A, F — 2 h after A. Note that prophase stages are distinctly visible, while anaphase is exceptionally dim.

Fig. 39. Metaphase and anaphase in cell in which the course of mitosis is very distinctly visible, note, however, that visibility is much worse than in other objects.

Fig. 40. Resting nucleus with nucleoli, cell with amoeba-like protrusions.

Fig. 41. *Vicia faba*. A — metakinesis, B — latea naphase, C — almost cesting nuclei without nucleoli, cell wall has not yet formed. A — 0 min, B — 22 mins after A, C — 2 h after A.


A
B
C
D
38
E
F
39
A
B
C
D
E
F
G
PISUM
VICIA
40
41
A
B
C
20 μ


42
43
A
B
C
44
A
B
C
D
E
F
BORAGO
20μ
HELIANTHUS
45
A
B
C
D
E
F
G
H



Figs. 42—43. *Borago officinalis*. Fig. 42. Multiploid cell. Fig. 43. Metaphase and anaphase in cell of average size. Anaphase is prolonged by lightening the cell. A — 0 min, B — 38 mins after A, C — 48 mins after A.

Figs. 44—45. *Helianthus annuus*. Fig. 44. A — late prophase just before metakinesis begins, metaphase, anaphase and telophase. A — 0 min, B — 37 mins after A, C — 44,5 mins after A, D — 48,5 mins after A, E — 58 mins after A, F — 1 h 9 mins after A.

Fig. 45. A — metaphase, B — beginning of anaphase, anaphase and telophase. Note that in B chromosomes are arranged in one plane, in E — the dark band is the first sign of cell wall formation. H — resting nuclei. Compare the dimensions of these two cells (Fig. 44 and 45) of *Helianthus*. In *Helianthus* most cells are of medium size (smaller than those in Fig. 45 and larger tahn in Fig. 44). A — 0 min, B — 15,3 mins after A, C — 17 mins after A, D — 20 mins after A, E — 24,5 mins after A, F — 27,5 mins after A, G — 33 mins after A, H — 4 h 30 mins after A.

Wartości odżywcze i witaminowe wysokogórskich tatrzańskich zespołów pastwiskowych

Nutritional values and the vitamines contents of some pasture associations from the high Tatra Mountains

TADEUSZ BASZYŃSKI i IRENA ZAWADZKA

(Wpłynęło dn. 20.X.53)

Po przebadaniu wartości witaminowych nizinnych zespołów łąkowych. woj. białostockiego (Z a w a d z k a I.) rozpoczęte zostały badania nad wartością odżywczą i witaminową wysokogórskich zespołów pastwiskowych rosnących w granitowych partiach Tatr. Do podjęcia badań zachęcały nas zarówno wyniki uzyskane w poprzedniej pracy (1) jak również stwierdzona zdrowotność i wyższa produktywność wełny, mleka, mięsa u owiec tatrzańskich.

Wyodrębnienia zespołów i pobrania prób dokonano w miejscach położonych w różnych odległościach od szlaku wiodącego z Hali Gąsienicowej poprzez zbocza Żółtej Turni, Krzyżne do Pięciu Stawów, Świstówkę, Opalone do Morskiego Oka. Pobrane w dniach 7 — 9 lipca 1953 r. próbki roślinności z typowych wybranych płatów odznaczały się tym, że charakterystyczne komponenty zespołów znajdowały się w stadium początkowym kwitnienia.

Na podstawie występujących gatunków charakterystycznych wydzielono następujące zespoły:

1. *Nardetum strictae.* P a w ł. S o k o ł. W a l l. (1928).
2. *Hygronardetum strictae.* P a w ł. S o k o ł. W a l l. (1928).
3. *Trifidi-Distichaetum tatricum.* P a w ł. S o k o ł. W a l l. (1928).
4. *Caricetum sempervirentis.* K r a j. (1933).

Pobrano również do analiz poszczególne gatunki traw na tym terenie występujących jak:

Sesleria disticha P e r s.
Deschampsia flexuosa L.
Juncus trifidus L.

Metodyka

Zebrany materiał został przebadany na zawartość witaminy C, karotenu, cukrów, rozpuszczalnych w wodzie i azotu ogólnego.

Ze względu na niemożliwość wykonania analiz chemicznych w terenie, badania zostały przeprowadzone po uprzednim wysuszeniu materiału. Warunki suszenia były identyczne jak w pracy poprzedniej (1), a suszenie trwało około 1 tygodnia.

Otrzymane wyniki przeliczono na 100 g suchej masy. W oznaczeniach wyżej wymienionych składników posługiwano się następującymi metodami:

1) witamny C — metodą Tillmansa, zmodyfikowaną przez Emmerie i Eekelena oraz Fellenberga otrzymując oprócz sumy kwasu askorbinowego i dehydroaskorbinowego także przybliżoną jej zawartość w formie zredukowanej (kwas askorbinowy) (2),
2) karoten — foto-kolorymetrycznie, oddzielając od innych barwników roślinnych metodą Willstättera i Stolla w opracowaniu Petersona, a następnie chromatografując na kolumnie wypełnionej Mg 0 (3),
3) cukry rozpuszczalne w wodzie metodą Bertranda (4).
4) azot ogólny — metodą Kieldahla (4).

Położenie wyodrębnionych zespołów nad poziomem morza mierzono za pomocą aneroidu stosując w przeliczeniach wzór La Place'a.

Dokonano również pomiarów stężenia jonów wodorowych gleby posługując się pH-metrem „Radiometer PHM 22".

Charakterystyka zespołów

1. *Nardetum strictae* Pawł. Sokoł. Wall. (1928),
   gatunki charakterystyczne:
   Nardus stricta L.
   Calluna vulgaris (L.) Hull.
   Luzula sudetica (Willd.) D. C.
   Potentilla aurea L.
   Phleum alpinum L.

Próbkę pobrano 9.VII.53 r. godz. 6 min. 30 Opalone wys. 1688 m n. p. m. ekspozycja O. Warstwa gleby ok. 20 cm, pH = 4,8 Zespół zwarty.

2. *Nardetum strictae* Pawł. Sokoł. Wall. (1928).
   gatunki charakaterystyczne: jak wyżej.

Próbkę pobrano 8.VIII.53 r. godz. 6 min. 15 Żółta Turnia wys.

1590 m n. p. m. ekspozycja W. Warstwa gleby ok. 19 cm, pH = 4,50.

3. *Hygronardetum strictae*. Pawł. Sokoł. Wall. (1928)
gatunki charakterystyczne:
Nardus stricta L.
Deschampsia flexuosa L.
Agrostis vulgaris With.
Carex fusca All.

Próbkę pobrano 8.VII.53 r. godz. 5 min. 30. Hala Gąsienicowa nad potokiem w miejscu zacienionym wys. 1440 m n. p. m. Warstwa gleby 5 — 25 cm, pH = 4,00.

4. *Trifidi — Distichaetum tatricum*. Pawł. Sokoł. Wall. (1928)
gatunki charakterystyczne:
Juncus trifidus L.
Sesleria disticha Pers.
Avena versicolor Vill.
Hieracium alpinum L.

Próbkę pobrano 8.VII.53 r. godz. 12, Wołoszyn przy zejściu z Krzyżnego wys. 2057 m n. p. m. ekspozycja S. Warstwa gleby 9 cm, pH = 5,20.

5. *Caricetum sempervirentis* Kraj. (1933)
gatunki charakterystyczne:
Carex sempervirens Vill.
Potentilla aurea L.
Agrostis rupestris All.
Phleum alpinum L.
Campanula alpina Jacq.

Próbkę pobrano 8.VII.53 r. godz. 13. Wołoszyn przy Wielkiej Kolibie wys. 1720 m n. p. m. ekspozycja SO. Warstwa gleby ok. 4 cm, pH = 5,60.

1. *Sesleria disticha* Pers. Próbkę pobrano 8.VIII.53 r. godz. 8 Czerwony Staw wys. 1660 m n. p. m. Warstwa gleby ok. 5 cm, pH = 3,75.

2. *Deschampsia flexuosa* L. Próbkę pobrano 9.VII.53 r. godz. 5 min. 30 Swistówka ekspozycja W wys. 1684 m n. p. m. Warstwa gleby 8 cm, pH = 5,65.

3. *Juncus trifidus* L. Próbkę pobrano 8.VII.53 r. godz. 6 min. 45 Żółta Turnia wys. 1684 m n. p. m. ekspozycja W. Warstwa gleby 5 cm, pH = 5,00.

Zestawienie wyników ilustruje tabela:

Zespół lub gatunek	Witamina C w mg % na suchą masę: kwas askorbinowy + dehydroaskorbin.	Witamina C w mg % na suchą masę: kwas askorbinowy	Karoten w mg % na suchą masę	Cukry rozp. w wodzie w % na suchą masę	Azot ogólny w % na suchą masę
Nardetum strictae (Opalone)	20,07	8,53	19,61	4,40	1,83
Nardetum strictae (Żółta Turnia)	11,92	5,36	14,18	2,26	2,14
Hygronardetum strictae (Hala Gąsienicowa)	16,76	13,51	17,00	1,96	2,39
Trifidi-Distichaetum (Wołoszyn)	33,81	24,27	14,67	10,23	2,65
Caricetum sempervirentis (Wołoszyn)	30,95	11,88	15,04	5,74	2,72
Sesleria disticha Pers. (Czerwony Staw)	45,55	13,47	13,81	9,70	2,72
Deschampsia flexuosa L. (Świstówka)	43,06	12,02	13,78	4,85	2,14
Junus trifidus L. Żóta Turnia)	19,29	7,87	11,94	5,40	2,62

Omówienie wyników

Zawartość witaminy C w przebadanych zespołach waha się w stosunkowo wysokich granicach (16,76 — 45,55 mg %), przy czym forma zredukowana stanowi 28 — 80% całkowitej ilości. Otrzymane wartości są około sześciokrotnie niższe w porównaniu z poziomem witaminy C w sianach zespołów łąk niżowych. Najbogatszy w witaminę C okazał się zespół *Trifidi-Distichaetum*, najuboższy *Nardetum* (Żółta Turnia).

Przebadany materiał wykazywał wyższy poziom wartości A-witaminowych w porównaniu z zespołami niżowymi. Najniższe wartości, stwierdzone w powyższej pracy, przewyższają pod tym względem najkorzystniejsze wyniki niżowych zespołów łąkowych. Ze względu na zawartość karotenu dominuje zespół *Nardetum* z Opalonego (19,61 mg %) następnie *Hygronardetum*, *Caricetum sempervirentis* i *Trifidi — Distichaetum*. Poszczególne gatunki traw ustępują nieco w zawartości karotenu zespołom. Z trzech przebadanych gatunków na pierwszym miejscu stoi *Sesleria disticha* Pers. z Czerwonego Stawu. Uderza w przebadanym materiale wysoka zawartość karotenu oraz niski poziom witaminy C.

Cukier rozpuszczalny w wodzie i azot ogólny wahają się w przeciętnych granicach. Nie udało się stwierdzić zależności między cukrem

i azotem, a witaminami. Wyniki uzyskane są ściśle związane z warunkami siedliska, środowiska oraz okresem wegetacyjnym.

Dobra zdrowotność owiec górskich i wysoka produktywność wełny, mięsa i mleka niewątpliwie stoją w związku z wysoką wartością odżywczą pastwisk górskich.

Omawiane zagadnienia wymagają dalszych i na szerszą skalę przeprowadzonych badań.

Składamy podziękowanie Dyrekcji Tatrzańskiego Parku Narodowego i Nadleśnictwa za umożliwienie swobodnego poruszania się na podległym jej terenie oraz za okazaną pomoc.

Z Zakładu Biologii Akademii Medycznej w Białymstoku
Kierownik: Prof. Dr inż. Witold Sławiński

SUMMARY

The vitamines contents and the nutritional values of pasture associations from the granitic part of the high Tatra Mountains were studied. The levels of the vitamine C, β-carotene, soluble sugars and of the total nitrogen were determined. It was found that the content of the vitamine C, as compared wih the meadows from the lowland, is sixfold lower. The richest in the vitamine C was the association *Trifidi-Distichetum* (33,81 mg % to dry matter). The amount of β-carotene was rather high. The richest in the carotene was the association *Nardetum strictae* from Opalone (19,61 mg %). The water soluble sugars and the total nitrogen content ranged in usual limits. No relationship between the level of sugars and the nitrogen and the vitamines content was found.

LITERATURA

1. Zawadzka I. — 1953. Acta Soc. Bot. Pol. Vol. XXII Nr. 2.
2. Fellenberg Th. — 1941. Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Higiene in Bern 32, 135.
3. György P., — 1950. Vitamins Methods.
4. Struszyński M. — 1950. Analiza ilościowa i techniczna. W-wa, III st. 345, 647.
5. Pawłowski B., Sokołowski M., Wallisch K. — Zespoły roślin w Tatrach P. A. U. rozprawy wydz. Mat.-Przyr. T. LXVII seria A/B.

O niektórych żyjących i kopalnych formach orzecha wodnego (*Trapa* L.)

(*On some living and fossil forms of Trapa* L.)

WŁADYSŁAW SZAFER

(Wpłynęło dn. 27.X.53 r.)

1. SYSTEMATYCZNA POZYCJA RODZAJU *TRAPA*

Od dawna ustalony jest pogląd, że rodzaj *Trapa* L. zajmuje odosobnione stanowisko w systemie filogenetycznym. Znajduje to swój wyraz w powszechnie dziś przyjmowanej przynależności tego rodzaju do osobnej rodziny *Hydrocaryaceae* Raimann, która w obrębie rzędu *Myrtiflorae* najbardziej zbliża się do rodzin *Lythraceae* i *Oenotheraceae*. Ostatnio przeważa zapatrywanie (Miki 1952), że raczej pierwsza z nich (tj. *Lythraceae*) pozostaje z rodzajem *Trapa* w bliższym pokrewieństwie. Niemniej, liczne i nader szczególne cechy morfologiczne, anatomiczne i ekologiczne, które są w przeważnej części cechami nabytymi przez rodzaj *Trapa* w procesie skrajnego przystosowania się do życia w wodzie stojącej i do rozsiewania owoców przez zwierzęta wodne — sprawiają, że ocena tych cech była i jest dotychczas ze stanowiska filogenetycznego nader trudna. Najlepszym dowodem istnienia tego rodzaju trudności jest fakt, iż do ostatnich czasów łączono z rodzajem *Trapa* rodzaje *Trapella* i *Hemitrapa*, lub wprost ich od rodzaju *Trapa* nie odróżniano, choć obydwa one oprócz podobnie brzmiących swoich nazw rodzajowych nie mają z rodzajem tym żadnego zgoła powinowactwa.

Rodzaj *Trapella*, opisany jeszcze w r. 1888 ma dziś tylko dwa gatunki przywiązane do Azji Wschodniej, a m.: *Trapella antennifera* (Léveillé) Glück i *T. sinensis* Oliver. Podobieństwo ich do rodzaju *Trapa* jest czysto zewnętrzne i polega głównie na podobnych owocach wodnych opatrzonych zadzierzystymi szczecinami ułatwiającymi rozsiewanie przez zwierzęta wodne, podobnie jak to czynią u *Trapa* przekształcone w kolce i opatrzone na szczycie zadzierzystymi harpunami działki kielicha. Inne istotne cechy rodzaju *Trapella* każą umieścić go po-

nad wszelką wątpliwość w rzędzie *Tubiflorae,* co dowodzi, iż podobieństwa owoców wodnych rodzajów *Trapa* i *Trapella* są natury konwergencyjnej nie zaś filogenetycznej. Niemal to samo co powiedzieliśmy o rodzaju *Trapella* ma zastosowanie również do rodzaju *Hemitrapa.* Rodzaj *Hemitrapa* zbadany został świeżo dokładnie przez japońskiego paleobotanika S. Miki'ego (1952). Okazało się że *Hemitrapa,* znana dotychczas tylko w stanie kopalnym z osadów wieku trzeciorzędowego z Ameryki północnej (Alaski) oraz ze Wschodniej Azji, jest blisko spokrewniona z wspomnianym wyżej rodzajem *Trapella,* którą zaliczono do rodziny *Pedaliaceae.* Miki stwierdził z jednej strony szereg cech różniących rodzaj *Trapella* od innych przedstawicieli tej rodziny, z drugiej zaś strony wskazał na bliskie pokrewieństwo *Trapella* z wymarłym rodzajem *Hemitrapa.* Na tej podstawie utworzył on dla obydwu tych rodzajów w obrębie rzędu *Tubiflorae* nową i odrębną rodzinę *Trapellaceae.*

2. UWAGI OGÓLNE O SZCZĄTKACH KOPALNYCH *TRAPA*

Powyższe uwagi o rodzajach *Trapella* i *Hemitrapa* są ważne dla paleobotaniki gdyż zalecają one wielką ostrożność w ocenie systematycznej pozycji szczątków kopalnych owoców przypominających zewnętrznym wyglądem kolczaste orzechy rodzaju *Trapa.* Wychodząc z tego nowego i krytycznego założenia poddał Miki (1952) ponownej analizie systematycznej niektóre trzeciorzędowe szczątki znane pod nazwą rodzajową „*Trapa*" i dowiódł, że nie mniej aniżeli cztery kopalne gatunki opisane jako *Trapa,* należą w rzeczywistości do całkiem z nim niespokrewnionego rodzaju *Hemitrapa.*

Są to:

1. *Trapa borealis* Heer 1869 = *Hemitrapa borealis* (Heer) Miki comb. n.
2. *Trapa Yokoyamae* Nathorst 1888 = *Hemitrapa yokoyamae* Miki comb. n.
3. *Trapa sachalinensis* Okutsu 1939 = *Hemitrapa sachalinensis* Miki comb. n.
4. *Trapa hokkaidoensis* Okutsu 1939 = *Hemitrapa hokkaidoensis* Miki comb. n.

Pierwszy z tych gatunków opisany był z trzeciorzędu Alaski, trzy następne są dotychczas znane tylko z trzeciorzędu Japonii.

Przy okazji przeprowadzenia powyższej korektury systematycznej wypowiedział Miki dalsze dwa przypuszczenia, a mianowicie, że *Trapa Credneri* Schenk, tak dalece odbiega szczegółami budowy anatomicznej owocni od tego rodzaju, że przyjąć można, iż nie należy ona w ogóle

do rodzaju *Trapa*, oraz że *Trapa microphylla* L x. przedstawia zapewne liście jakiejś paproci wodnej.

Można się spodziewać dalszych krytycznych ocen kopalnych szczątków roślinnych opisanych jako rodzaj *Trapa* (por. u Kirchheimera 1937, str. 86, ryc. 101 b). Lecz nawet przy trafnym rozpoznaniu przynależności szczątków kopalnych do rodzaju *Trapa* natrafia paleobotanika na bardzo poważne trudności przy gatunkowej ich klasyfikacji. Pochodzi to stąd, iż odróżnianie gatunków kopalnych oparte jest tu niemal wyłącznie na cechach morfologicznych orzechów, a te właśnie cechy są bardzo zmienne. Trudność tę zwiększa nadto w wysokim stopniu fakt, iż materiał kopalny orzechów, którym rozporządza paleobotanik jest zwykle ilościowo nieznaczny, a nawet wtedy gdy jest bogaty, rzadko tylko reprezentowany jest on przez okazy orzecha zachowane w całości. Aby dać przykład jak przeciętnie wygląda materiał kopalny orzechów rodzaju *Trapa* przytoczę tu następujące dane odnoszące się do materiału kopalnego, na którym oparte zostały badania zawarte w tej rozprawie:

Miejscowość	Wiek geologiczny	Orzechy ± całe, wyrośnięte	Orzechy ± całe, lecz niewyrośnięte	Ułamki orzechów	Razem
Konin	mio-pliocen	1	—	74	75
Krościenko	pliocen	2	—	9	11
Żydowszczyzna	interglacjał Mindel-Riss (*Masovien 1*)	16	16	58	90
Wylezin	interglacjał (*Masovien 1*)	—	—	9	9
Ciechanki Krzesimowskie	interglacjał Mindel-Riss (*Masovien 1*)	2	3	180	185
Bohatyrowicze (Samostrzelniki)	interglacjał Riss-Nürm (*Masovien 2*)	7	3	18	28
	Razem	28	22	348	398

Z powyższej tabeli wynika, że w sumie zaledwie około 10% powyższego materiału kopalnego miało pełną wartość ze stanowiska taksonomicznego. Jeżeli do tego dodamy fakt, iż kopalne orzechy są zawsze mniej lub więcej zniekształcone, to jasnym się stanie, że oznaczanie gatunkowe kopalnego materiału *Trapa* jest bardzo trudne i łatwo jest popełnić przy tym gruby błąd.

Pomimo powyższych trudności systematyka wewnątrzrodzajowa kopalnych szczątków *Trapa* skazana jest na oparcie się o cechy morfologiczne orzechów, gdyż kopalne liście tego rodzaju praktycznie nie wchodzą w rachubę, zaś kopalne kwiaty nie są w ogóle znane. W tych warunkach nabiera wielkiego znaczenia dla paleobotaniki krytyczna ocena podstaw odróżniania obecnie żyjących gatunków rodzaju *Trapa* na podstawie cech morfologicznych samych tylko orzechów.

3. MORFOLOGIA ORZECHA JAKO PODSTAWA ODRÓŻNIANIA GATUNKÓW

W ocenie znaczenia dla systematyki cech morfologicznych orzechów rodzaju *Trapa* zaznaczają się wyraźnie dwa kierunki. Jeden, stwierdzający ich wielką zmienność, cechom tym nie przyznaje większego znaczenia systematycznego, drugi przeciwnie nawet w drobnych właściwościach morfologicznych orzecha dopatruje się wystarczającej podstawy do wyróżniania w rodzaju *Trapa* gatunków i odmian. Kierunek pierwszy reprezentują z nowszych m. in., Glück (1936) i Gams. Ten ostatni badacz w opracowaniu *Trapa* w znanym dziele Hegi'ego (1925) opisał dla Europy Środkowej tylko jeden gatunek tego rodzaju tj. *Trapa natans* L. z licznymi wewnątrzgatunkowymi „formami", przy czym również kaukaskie i azjatyckie „gatunki" (takie jak np. *T. maeotica* Woron. lub *T. Maximowiczii* Korsh.) uważa on tylko za „drobne gatunki" (Kleinarten) wewnątrz gatunku *Trapa natans* L. Europejskie „formy" *T. natans* L. podzielił Gams na następujące szeregi (Reihen) względnie podgatunki *(subsp)*:

1. subsp. *Verbanensis* (De Not.) Schinz. z dwoma kolcami kielichowymi,
2. subsp. *Muzzanensis* (Jäggi) z 4-ma kolcami kielichowymi oraz z 4-ma z nimi naprzemianległymi wyrostkami,
3. subsp. *natans* Schinz. bez wyrostków położonych pomiędzy kolcami kielichowymi.

W tym ostatnim podgatunku odróżnił Gams (idąc w tym za Nathorsten 1888) dwa szeregi form: *Coronatae* i *Lacvigatae*. W dalszą charakterystykę systematyki wewnątrzgatunkowej *Trapa natans* L. wdawać się tutaj nie będziemy.

Na stanowisku szerokich pojęć gatunkowych w obrębie rodzaju *Trapa* stoją m. in.: Jackson w Index Kewensis, uznający dla flory całego świata tylko 7 gatunków, Engler-Diels (1936) uznający ogółem tylko 3 gatunki (w Europie i Azji) — Muenscher (1944) przyjmujący „około 5 gatunków" *Trapa* w Europie, tropikalnej Afryce i w Azji, — oraz z rosyjskich badaczy Ryczin (1948), który nie poszedł wzorem

Florowa, podając w swym nowym wykazie z ZSRR tylko zbiorowy gatunek *T. natans* oraz *T. muzzanensis* Jäggi.

W przeciwieństwie do wymienionej grupy badaczy znalazł się Flerow (1926). Ten wybitny systematyk rosyjski uznał, iż cechy morfologiczne orzechów rodzaju *Trapa* tworzą główną i dobrą podstawę do odróżniania gatunków w tym rodzaju. W konsekwencji takiego stanowiska wyróżnił on w obrębie *Trapa natans* L. s. l. 11 osobnych gatunków.

Śladem Flerowa poszedł W. N. Wassiliew (1949) w najnowszym opracowaniu systematyki rodzaju *Trapa* umieszczonym w XV-tym tomie dzieła „Flora ZSRR", wydawanym przez Akademię Nauk Związku Radzieckiego. Przy odróżnianiu gatunków posługuje się on wprawdzie nie tylko cechami morfologicznymi orzechów lecz również liści oraz kwiatów, niemniej punkt ciężkości systematyki wewnątrzrodzajowej umieszcza on we właściwościach owoców (Wassiliew 1950).

Wassiliew podaje w cytowanym dziele dla olbrzymich terenów całego Związku Radzieckiego nie mniej aniżeli 25 gatunków *Trapa*, przy czym 12 gatunków opisał tutaj po raz pierwszy.

Opracowanie Wassiliewa posiada podstawowe znaczenie również dla naszego terenu. Sądząc po charakterze rozmieszczenia geograficznego w Europie, w Polsce występują lub też są tutaj możliwe do odnalezienia następujące gatunki rodzaju *Trapa:*

1. *Trapa natans* L. s. str. *(T. natans* f. *coronata* Nath., *T. natans* var. *coronata* (Nath.) Glück, *T. natans* f. *subcoronata* Nath.)
2. *Trapa europaea* Fler. (s. str.). *(T. natans* var. *muzzanensis* auct. fl. polon, = *Trapa muzzanensis* Jäggi).
3. *Trapa conocarpa* (Aresch.) Fler. *(T. natans* var. *conocarpa* Aresch.).
4. *Trapa cruciata* (Glück) V. Vassil. *(T. natans* var. *cruciata* Glück).
5. *Trapa septentrionalis* V. Vassil. *(T. natans* f. *subconocarpa* Nath., *T. natans* f. *suecica* Nath., *T. natans* var. *suecica* (Nath.) Schröter, *T. natans* var. *bispinosa* Fler., *T. natans* var. *cruciata* Glück f. *bicornis* Glück).
6. *Trapa rossica* V. Vassil. *(T. natans* var. *surajensis* Fler., *T. hungarica* Fler. von Opiz, *T. natans* var. *media* Glück, *T. natans* var. *bohemica* Fler., *T. natans* f. *laevigata* Nath., *T. natans* var. *laevigata* (Nath.) Glück.
7. *Trapa carinthiaca* (Beck) V. Vassil. *(T. natans* var. *carinthiaca* Beck, *T. natans* Schröter, *T. natans* Schinz u. Keller).

Z powyższych siedmiu gatunków tylko pierwszy, tzn. *Trapa natans* L. *s. str.* jest w Polsce rozpowszechniony w różnych odmianach wzgl. formach, o których w tym miejscu mówić nie będziemy. *Trapa europaea* Fler. (pod nazwą *Trapa muzzanensis* Jäggi) opisana była w naszej literaturze (Raciborski 1911) z terenu ZSRR a m. z Białorusi Sowieckiej (Horenicze nad Berezyną) oraz z jeziora Pohost w powiecie pińskim (Dąbkowska 1929). O innych gatunkach nie było dotychczas wzmianek w polskiej literaturze.

Przeglądając materiały orzechów rodzaju *Trapa* znajdujące się w zbiorach w Krakowie, doszedłem do przekonania, że wobec wielkiej zmienności cech morfologicznych nawet w próbach zebranych w tym samym miejscu, należy zastosować przy ustalaniu jednostek systematycznych metodę statystyczną i próbować wykryć cechy związane z sobą korelatywnie. Do tego celu nadaje się dobrze porównawcza metoda linii kształtów, opisana przez J. Jentys-Szaferową (1951). Praca taka wymaga jednakże ponownego zebrania większych prób orzechów z różnych miejscowości i dlatego musi zostać odłożona na później. Tutaj pragnę tylko stwierdzić tymczasowo, że w materiałach, które miałem do dyspozycji, znajdują się poza *T. natans* L. *s. str.* i *T. europaea* Fl. nadto następujące gatunki (w ujęciu Wassiliewa): *T. conocarpa* (Aresch.) Fl., którą nietypową widziałem z Blachowic pod Częstochową i z Berezowa koło Suchedniowa, — *T. cruciata* (Glück) V. Vassil. z Otmuchowa (Śląsk) i Jadownik koło Brzeska (jeziora Trzciano i Święcone), gdzie zebrali je w roku 1953 J. Walas i S. Błaszczyk) — oraz *T. rossica* V. Vassil. z Podłęża, z Niepołomic i z Niżniowa.

Wśród materiałów orzechów rodzaju *Trapa* znajdujących się w zbiorach w Krakowie natrafiłem również na liczne orzechy z jeziora Pohost, zebrane tam po raz pierwszy jeszcze w r. 1883 przez M. Twardowską (cyt. za Raciborskim 1911), a następnie później, kilkakrotnie przez Dąbkowską. Raciborski mówiąc o okazach kotewki z Pohostu nie zidentyfikował ich z okazami *Trapa muzzanensis* Jäggi, chociaż zauważył na nich cztery brodawki (wyrostki), tępe „do 1 mm wysokie i szerokie". Dąbkowska rozporządzając obfitym materiałem stwierdziła na orzechach z Pohostu uderzającą zmienność ich wielkości oraz wyrostków międzykolcowych, które wyjątkowo dochodzą tam nawet do 3 mm długości, lecz z reguły są drobne, lub niemal zupełnie zanikłe. Według mojego przypuszczenia okazy *Trapa* z Pohostu nie należą do *T. europaea* Fler. (*T. muzzanensis* Jäggi), lecz tworzą szczególnie bogatą w formy populację zbliżoną do *Trapa rossisa* V. Vassil. Być może jednak, że mamy tu do czynienia z odrębnym gatunkiem. Sprawa ta wymaga dalszego badania z uwzględnieniem warunków ekologicznych panujących w jeziorze Pohost, a zwłaszcza zbadania czy istnieje korela-

cja pomiędzy wielkością orzecha a obecnością względnie wielkością wyrostków międzykolcowych. Badania tego rodzaju byłyby tym bardziej pożądane, że przez różnych badaczy było już wypowiedziane przypuszczenie, że obecność względnie wielkość czterech wyrostków międzykolcowych na orzechu *Trapa*, jest cechą natury konwergencyjnej, występującą lub mogącą wystąpić u różnych gatunków tego rodzaju w odpowiednich, edaficznie szczególnie korzystnych warunkach środowiskowych. Jedyne znane mi badania doświadczalne nad związkiem zmienności cech orzechów *Trapa* i warunkami zewnętrznymi przeprowadził w Japonii Nakano (1914).

Trudne zadanie krytycznego opracowania systematyki krajowych gatunków rodzaju *Trapa* podjął przed drugą wojną światową B. Hryniewiecki. Rozporządzając obfitym materiałem zgromadzonym z wielu zbiorów, pracę tę wykonał lecz niestety nie ukazała się ona w druku, gdyż gotowy rękopis wraz z wszystkimi zbiorami spłonęły w Warszawie w r. 1944. Zważywszy, że ponowne zebranie w jednym ręku obfitych zbiorów orzecha wodnego będzie trudne i że nigdy już nie będzie ono mogło być kompletne z powodu wyginięcia kotewki z jej wielu stanowisk naturalnych — strata jaką poniosła nauka przez spłonięcie tych zbiorów i rękopisu nie da się już nigdy w pełni powetować. W popularnym ujęciu podał Hryniewiecki wiadomości o rodzaju *Trapa* w Polsce w r. 1950.

Równocześnie i niezależnie od nowego opracowania systematyki rodzaju *Trapa* dla obszaru ZSRR przez Wassiliewa (1949), przeprowadził analogiczne studia w Japonii S. Miki. W ostatniej publikacji (1952) badacz ten opierając się wyłącznie na morfologii orzechów, form zarówno dziś żyjących jak i wymarłych (kopalnych), doszedł do nader interesujących wyników, rzucających nowe światło na ewolucję historyczną form w obrębie rodzaju *Trapa*. Najważniejszym jest z tego stanowiska odkrycie przez japońskiego badacza pierwotnych form orzecha wodnego, w postaci dwu wymarłych gatunków, a mian. *Trapa tetragona* Miki i *Trapa discoidpoda* Miki. Obydwa one mają zachowany odłamek nasadowy szypułki u podstawy orzecha, który u form filogenetycznie młodych odpada, pozostawiając charakterystyczną bliznę. Dla tych dwu pierwotnych plioceńskich gatunków stworzył Miki pojęcie nowego podrodzaju *Subg. Stipitrapa* Miki i przeciwstawił mu wszystkie inne gatunki rodzaju *Trapa*, w drugim podrodzaju: *Subg. Eutrapa* Miki.

Następnym ważnym odkryciem było stwierdzenie przez Miki'ego istnienia gatunków opatrzonych na orzechu nie 4-ma, lecz 8-ma wyrostkami, przy czym cztery z nich położone są pomiędzy kolcami (tak jak u *T. muzzanensis)*, cztery zaś inne są im nadległe. Pierwsze interpre-

tuje M i k i jako wyrostki w które przekształciły się nasady czterech płatków, cztery następne jako wyrostki, w które przekształciły się nasady czterech pręcików. Do ośmiowyrostkowych należą orzechy: *T. pulvinipoda* M i k i, *T. deformata* M i k i i *T. octotuberculata* M i k i. Wszystkie te trzy gatunki żyły w pliocenie w Japonii.

Nie wdając się tutaj w rozpatrywanie dalszych wyników pracy M i k i' e g o, możemy tylko ogólnie stwierdzić, że ich znaczenie dla systematyki rodzaju *Trapa* jest podobnie doniosłe jak pracy W a s s i l i e w a.

4. O CENTRUM ROZMIESZCZENIA I PRZYPUSZCZALNYM CENTRUM POWSTANIA RODZAJU *TRAPA*

Rozpowszechnione jest zapatrywanie, że *Trapa* jest elementem arktyczno-trzeciorzędowym (w sensie A. E n g l e r a) i że jej centrum powstania — zapewne w okresie górnej kredy — położone było w północnej części Ameryki Północnej, może na Alasce. Przypuszczenie to wydaje się mało prawdopobone w świetle nowych faktów ujawnionych przez W a s s i l i e w a i M i k i' e g o. Pomijając tu przytoczone już wyżej sprostowania mylnych oznaczeń „*Trapa*" *borealis*, „*Trapa*" *Credneri*, oraz „*Trapa*" *microphylla*, które uchodziły niesłusznie za prymitywne formy rodzaju *Trapa*, decydującego argumentu, przemawiającego za tezą umieszczenia centrum powstania tego rodzaju raczej w Azji Wschodniej dostarcza obraz geograficznego rozmieszczenia gatunków *Trapa* obecnie i w minionej przeszłości geologicznej.

O ile chodzi o rozmieszczenie geograficzne gatunków *Trapa* występujących na olbrzymich obszarach państw Związku Radzieckiego to jest ono następujące (według W a s s i l i e w a):

1. Tylko na Dalekim Wschodzie żyją: *Trapa Maximowiczii* K o r s h., *T. Tranzschelii* V a s s i l., *T. tuberculifera* V a s s i l., *T. Potaninii* V a s s i l., *Trapa Komarovii* V a s s i l., *T. Korshinskyi* V a s s i l., *T. Litwinowii* V a s s i l i *T. manshurica* F l e r.
2. Na Dalekim Wschodzie i na Syberii żyją: *Trapa amurensis* F l e r. i *T. siberica* V a s s i l.
3. Na Syberii żyją: *Trapa longicornis* V a s s i l. i *T. pectinata* V a s s i l.
4. Na Kaukazie oraz w basenach Mórz Kaspijskiego i Czarnego żyją: *Trapa Maleevii* V a s s i l., i *T. hyrcana* W o r o n.
5. Na Kaukazie i w połdn.-wschodniej części europejskiej części ZSRR żyje: *Trapa colchica* A l b o f f.
6. W zachodniej Syberii i w południowo-wschodniej części europejskiej części ZSRR żyją: *Trapa Spryginii* V a s s i l. i *T. astrachanica* (F l e r.) W i n t e r.

7. W basenie Morza Czarnego europejskiej części ZSRR żyje: *Trapa maeotica* W o r o n.
8. W Europie żyją: *Trapa natans* L. s. str., *T. europaea* F l e r., *T. cruciata* (G l ü c k) V a s s i l., *T. rossica* V a s s i l, *T. setentrionalis* V a s s i l., *T. carinthiaca* (B e c k.) V a s s i l. i wreszcie *T. conocarpa* (A r e s c h) F l e r., która w blisko spokrewnionych formach sięga przez Syberię aż na Alaskę.

Jak widać z powyższego przeglądu ilościowo najbogatsza jest grupa gatunków Dalekiego Wschodu, która z gatunkami przechodzącymi stąd na Syberię liczy 10 gatunków. Doliczając do tej ilości trzy gatunki przeważnie kaukazkie oraz trzy gatunki przechodzące zasięgami z Kaukazu i z Azji zachodniej do części południowo-wschodniej europejskiej części ZSRR — otrzymamy ogółem 16 gatunków „azjatyckich“, którym możemy przeciwstawić zaledwie 7 (lub 8) gatunków ściśle „europejskich“. Ta przewaga gatunków azjatyckich (wśród których najliczniejsze są gatunki Dalekiego Wschodu) nad gatunkami europejskimi popiera tezę o wschodnio-azjatyckim ośrodku genetycznym rodzaju *Trapa*.

Twierdzenie powyższe nabiera większej pewności wobec faktu, iż w grupie gatunków wschodnio-azjatyckich spotykamy najwięcej form reliktowych o cechach pierwotnych. Za pierwotne (starsze) cechy ze stanowiska historycznej ewolucji rodzaju *Trapa* uchodzić mogą głównie (M i k i 1952): 1^0 drobne wymiary orzechów, 2^0 zatrzymywanie nasady szypułki na owocu, 3^0 obecność 8 lub 4 wyrostków, w które przekształcają się nasady płatków i nitek pręcikowych (gdy jest wyrostków 8), lub tylko nasady płatków (gdy jest wyrostków 4), 4^0 ustawienie rogów (kolców) kielichowych na orzechu mniej więcej w jednej płaszczyźnie, 5^0 słabe wykształcenie tzw. korony na szczycie owocu.

M i k i chociaż zajął się w pracy z r. 1952 przede wszystkim kopalnymi szczątkami rodzaju *Trapa* w Japonii, jednakże podał również tablicę (fig. 13 na str. 24) rysunków przedstawiających „współczesne formy *Trapa* w Azji Wschodniej“. Zestawienie to obejmuje następujące gatunki: 1. *Trapa platycerata* M i k i n. sp. — 2. *T. Makinoi* (N a k a n o) M i k i, 3. *T. incisa* S. et Z. i *T. incisa* var. *major* M i k i, 4. *T. Maximowiczii* K o r s h., 5. *T. chinensis* N a k a i, — 5. *T. japonica* F l e r., — 7. *T. macropoda* M i k i i *T. macropoda f. bicerata* M i k i, — 8. *T. manshurica* F l e r., — 9. *T. bispinosa* R o x b. hodowana na Formozie. — 10 *Trapa bicornis* L. forma hodowana w Chinach, — 11. *Trapa sp.* hodowana z prowincji Kwantung w Chinach.

Porównując powyższy wykaz z zestawieniem gatunków podanych przez W a s s i l i e w a (1949) z Dalekiego Wschodu, stwierdzamy, że (poza hodowanymi) tylko dwa gatunki wspólne znajdują się w spisach obydwu autorów, a mianowicie: *Trapa Maximowiczii* K o r s h. i *T.*

manshurica F l e r. Do nich należy dodać jeszcze: *T. japonica* F l e r. (1925), którą W a s s i l i e w opisał jako *T. Litwinowii* V a s s i l. oraz *T. incisa* S. et. Z., którą W a s s i l i e w podał jako *T. Komarovii* V a s s i l.

Z powyższych zestawień geograficznego rozmieszczenia spółcześnie żyjących gatunków rodzaju *Trapa* wynika jasno, że Azja Wschodnia jest głównym centrum ich zagęszczenia geograficznego, a ponieważ tam żyją również po dzień dzisiejszy formy o najpierwotniejszych cechach morfologicznych orzechów, przeto hipoteza M i k i' e g o o umieszczeniu w Azji Wschodniej również centrum powstania rodzaju *Trapa* wydaje się uzasadniona.

Absolutnej słuszności tezy o wschodnio-azjatyckiej kolebce rodzaju *Trapa* dostarczyć mogą oczywiście tylko dokumenty kopalne. Pod tym względem pozostaje jeszcze wiele do zrobienia. Wprawdzie mamy opisy i zestawienia form kopalnych *Trapa* zarówno z Eurazji jak i z Ameryki Północnej, jednakże nie są to zestawienia krytyczne, które by uwzględniały nowsze poglądy systematyki roślin na ewolucję cech jej orzechów i dlatego są przestarzałe. Z ważniejszych źródeł podających wiadomości o formach kopalnych *Trapa* wymienię tu tylko dwa zestawienia ogólne G a m s a (1925 i 1927), zestawienie F l e r o w a (1925) oraz podobne zestwaienia regionalne W a s s i l i e w a (1949) i M i k i' e g o (1952). Dla Ameryki podają interesujące wiadomości o kopalnych orzechach wodnych zwłaszcza: B e r r y (1914 i 1927), D o r f (1938) i A x e l r o d (1944), dla Szwecji N a t h o r s t (1884) i M a l m s t r ö m (1920). Nie wszystkie wymienione tam „gatunki" kopalne *Trapa* należą do tego rodzaju, inne znów opisano na podstawie bardzo szczupłych resztek, tak że bez nowego, krytycznego ich opracowania nie wiele światła rzucają one na historyczną ewolucję tego rodzaju. Trudno nawet ustalić dolną granicę geologiczną pojawienia się resztek kopalnych *Trapa* na ziemi, wszystkie bowiem podawane dla kredy są albo wręcz mylne (p. wyżej) albo bardzo wątpliwe. Wydaje się prawdopodobne, że pewnie rozpoznawalna *Trapa* pojawiła się w eocenie, zaś dopiero w pliocenie i plejstocenie przeżywała główny okres swego różnicowania ewolucyjnego.

5. UWAGI OGÓLNE O KOPALNYCH FORMACH RODZAJU *TRAPA*

Przy okazji opracowania współcześnie żyjących gatunków rodzaju *Trapa* ZSRR, W. N. W a s s i l i e w podał również wiadomości o kopalnych jego formach, choć specjalnie się nimi nie zajmował. Wymienił on: *Trapa divaricata* P a l i b. z oligocenu okolic Kaukazu, — *T. europaea* F l e r., („*T. muzzanensis* J ä g g i") z kilku stanowisk interglacjalnych osadów europejskiej części ZSRR, — *T. Ivtschenkoana* V.

V a s s i l. z osadów plioceńskich Zakaukazji (Soczi), podawaną stąd jako *T. praecarinthiaca* V. V a s s i l., — *T. Kozlowii* K r y s z t. z oligocenu Kraju Ussuryjskiego, — *T. Krysztofowiczii* V. V a s s i l. z trzeciorzędu Syberii i Dalekiego Wschodu, — *T. natans* L. z osadów międzylodowcowych z okolic Grodna, Mikulina, Potylichy i dolnej Wołgi, — *T. praeconocarpa* V. V a s s i l z osadów mioceńskich nad Irtyszem, — *T. pseudopomelii* V. Va s s i l z oligocenu Kraju Ussuryjskiego (komb. z *T. Kozlowii*), — *T. Nikitinii* V. V a s s i l z miocenu zachodniej Syberii, — *T. turkestanica* K r y s z t . z pliocenu Azji centralnej.

Nadto W a s s i l i e w podał następujące kopalne formy rodzaju *Trapa: T. septentrionalis* V. V a s s i l. *(T. natans f. subconocarpa)* z obszarów górnej Oki i Wołgi oraz z Serbii i południowej Szwecji, wreszcie *T. costata* V. V a s s i l. z południowej Szwecji.

M i k i (1952) opisał obfite szczątki kopalne rodzaju *Trapa* z Japonii z nie mniej aniżeli 90 stanowisk. W tym niezwykle bogatym materiale, pochodzącym z pliocenu i plejstocenu, stwierdził obecność 16 gatunków, w której to liczbie 12 gatunków jest endemicznych dla Japonii. Nas interesują tu tylko te kopalne gatunki japońskie, które wykazują podobieństwo do niżej w tej pracy opisanych form kopalnych.

W Ameryce Północnej, gdzie obecnie nie żyje *Trapa* w stanie dzikim (występuje tam tylko jako roślina zdziczała, zawleczona z Europy), odnaleziono jej szczątki kopalne tylko w osadach z późnego trzeciorzędu (pliocenu). Opisano je najpierw pod nazwą *Trapa americana* K n o w l t o n (K n o w l t o n 1898 i B e r r y 1927), następnie zaś dalsze, odnalezione w górnym pliocenie orzechy opisano jako *Trapa prenatans* D o r f. (1936—1938). Obydwie te formy kopalne są niewątpliwie ze sobą blisko spokrewnione, albo nawet wprost identyczne. Chociaż orzechy *T. prenatans* okazują wyraźną przynależność do typu *T. natans* L. s. str., to jednakże wybranie dla ich określenia nazwy „*prenatans*“ nie wydaje się szczęśliwe, gdyż sugeruje przyjęcie miejsca powstania *T. natans* na kontynencie amerykańskim, co wydaje się obecnie przypuszczeniem nieprawdopodobnym.

6. OPIS KOPALNYCH FORM *TRAPA* Z POLSKI I Z KRAJÓW OŚCIENNYCH

Materiał kopalny, który niżej opiszę, składał się z okazów należących do flor różnego wieku geologicznego, od miocenu do ostatniego interglacjału. Zajmiemy się nim obecnie poczynając od flor mioceńskich.

M i o c e n. Z miocenu znamy dotychczas z Polski tylko jeden gatunek rodzaju *Trapa,* a m. *T. silesiaca* G o e p p. (Tabl. I, 1).

Trapa silesiaca G o e p p. opisana została z trzeciorzędu śląskiego (górny miocen) z miejscowości Sośnice (Schossnitz), a następnie podawa-

na była również i z innych stanowisk z Łużyc i Niemiec. Nie wymieniam ich tutaj, gdyż wszystkie one wymagają krytycznej rewizji. Tak np. sądząc z fotografii przedstawiającej *T. silesiaca* z Łużyc, zamieszczonej u Kirchheimera (1937, str. 86, ryc. 101a), gatunek ten ma nasadę orzecha wydłużoną jak gdyby w resztkę ogonka, podczas gdy oryginalny okaz podany przez Goepperta z Sośnic (Goeppert 1855. str. 38, Tab. XXV, fig. 14) posiada wyraźnie nasadę tępą. Również okaz *T. silesiaea* Goepp., jaki miałem okazję zbadać, pochodzący ze Śląska (a podpisany jako „typ" znaleziony w roku 1913 w kopalni „Florentyna"), ma nasadę tępą, z dość wyraźnie zachowaną blizną szypułkową. Okaz ten przedstawiono tu na Tab. I, ryc. 1. Długość orzecha wynosi 18 mm (bez kolców). Posiada on 3 kolce kielichowe, z których dwa są zachowane, trzeci zaś u nasady jest odłamany. Trzy okazy oryginalne Goeppreta z Sośnic, które również widziałem dzięki uprzejmości Dr M. Kostyniuka, są mniejsze i posiadają po 2 rogi.

Mio-Pliocen. Tego wieku geologicznego jest prawdopodobnie flora pokładów węgla brunatnego z miejscowości Konin w środkowej Polsce. Tu odnalazła Bobrowska (praca w druku) liczne (75 okazów) szczątki rodzaju *Trapa*, niestety składające się niemal z samych odłamków orzechów, przeważnie kolców kielichowych. Dwa w większych odłamkach zachowane okazy (Tab. I, ryc. 2) wykazują wielkie podobieństwo do niżej opisanych okazów *Trapa* z Krościenka n/D. Większy jest szeroki ok. 13 mm. Różnią się one od nich tylko brakiem wyrostków międzykolcowych. Sądząc po rozmaitości morfologicznej samych kolców. można by przyjąć, iż w osadach z Konina występują szczątki co najmniej 2 odrębnych gatunków: jeden, najczęstszy, zbliżający się do *T. cf. incisa* S. et Z. (patrz niżej), drugi (1 tęgi kolec) przedstawia — być może — formę zbliżającą się do *T. silesiaca*.

Pliocen. Dotychczas znamy rodzaj *Trapa* tylko z dolnego pliocenu z miejscowości Krościenko nad Dunajcem. Okazy tam znalezione (2 okazy mało uszkodzone i 8 odłamków) opisałem (Szafer 1947. str. 118) pod nazwą *Trapa natans* var. *tuberculata* Heer., przy czym ze względu na obecność czterech wyrostków międzykolcowych porównałem je z *T. muzzanensis* Jäggi (= *T. europaea* Fler.) zaznaczając równocześnie, że ze względu na ich drobne wymiary zajmują one w stosunku do niej stanowisko pierwotnej „formy wyjściowej".

Obecnie, po ponownym zanalizowaniu cech okazów z Mizernej doszedłem do przekonania że należą one do jednego. drobnoowocowego gatunku, przypominającego trzy wschodnio-azjatyckie gatunki, a m.: *T. mammilifera* Miki (opisaną z pliocenu japońskiego), *T. Maximowiczii* Korsh. i drobną formę *T. incisa* S. et Z., ostatnie dwa dziś jeszcze żyjące w Azji Wschodniej. Od *T. mammilifera* różnią się okazy

z Krościenka blizną szypułkową nie umieszczoną na wydłużeniu kielicha, od *T. Maximowiczii* nieco grubszymi u nasady i jak gdyby krótszymi kolcami kielichowymi, zaś od *T. incisa* nie różnią ich żadne istotne cechy. To skłania mnie do podania okazów z Krościenka pod nazwą *T. cf. incisa* S. et Z. pozostawiając ostateczną ocenę jej pozycji systematycznej dalszym badaniom.

Okaz jeden, bocznie spłaszczony, posiada cztery ścięte wyrostki międzykolcowe i jest 11,8 mm wysoki oraz około 15 mm szeroki, (z kolcami) kształtu trójkątnego. Drugi okaz, ukośnie spłaszczony, jest około 13 mm wysoki i około 16 mm szeroki.

Pragnę zauważyć, że *T. incisa* S. et Z. jest zbliżona do europejskiej *T. carinthiaca* (Beck) V. Vassil., nie posiadającej jednakże nigdy wyrostków międzykolcowych. O ile tej cesze nie przypiszemy większego znaczenia, pokrewieństwo *T. incisa* z *T. carinthiaca* musimy uznać za bardzo prawdopodobne. W jakim stosunku pozostają okazy z Krościenka do opisanej z pliocenu podkaukaskiego (Soczi) przez Wassiliewa *T. praecarinthiaca* V. Vassil oraz do *T. Komarowii* V. Vassil. — nie wiadomo.

Spośród kopalnych form europejskich nasze okazy zbliżone są do okazu *Trapa* znalezionego przez Baasa (1932) w najstarszym interglacjale (Tegelien) w miejscowości Schwanheim nad Menem, którego fotografię przedstawia rys. 66 na tablicy IV. Baas zaliczył wszystkie zauważone przez siebie w Schwanheim formy rodzaju *Trapa* do gatunku *Trapa natans* L.

Interglacjał starszy (Mindel-Riss, Masovien 1). Tego wieku geologicznego jest bardzo obfity materiał zebrany z osadów jeziornych w miejscowości Żydowszczyźnie pod Grodnem (Szafer 1932 i 1953) oraz z Ciechanek w Lubelszczyźnie. Materiał z Wylezina jest nieoznaczalny. Niestety, większość okazów *Trapa*, wydobyta z bitumicznego łupku w Żydowszczyźnie, spłonęła wraz z innymi zbiorami w Warszawie. Niemniej pozostały w Krakowie materiał przedstawia się interesująco w postaci kilkudziesięciu okazów, morfologicznie uderzająco rozmaitych. Natomiast materiał z Ciechanek w Lubelszczyźnie jest w porównaniu z materiałem z Żydowszczyzny pod względem morfologicznym uderzająco jednolity.

W Żydowszczyźnie można było wyróżnić następujące formy orzechów rodzaju *Trapa:*

1. *Trapa platycerata* Miki (Miki 1952) (Tabl. I, ryc. 6 i 7). Orzechy średnio duże, o średnicy (mierzonej po linii kolców) około 33 mm, o czterech kolcach kielichowych szeroko-jajowatych, nagle przechodzących w krótki i ostry szczyt. Międzykielichowych wyrostków 4. Te, duże, szeroko brodawkowate, wyraźnie zbliżone do nasady górnych dzia-

łek kielicha. Dolne działki kielicha tak prawie duże jak górne. Korona szczytowa przy okienku szeroka, w narysie prawie prostokątna, na brzegu z wyrostkami. Tubus kielicha stosunkowo wąski i krótki, przechodzący w płaski, diskoidalny znaczek.

Powyższe charakterystyczne cechy oraz zgodność z opisem i z rysunkami *T. platycerata* M i k i, przedstawionymi w jego pracy (1952, str. 24, rys. 13A), czynią — jak sądzę — oznaczenie powyższe dostatecznie pewnym.

T. platycerata M i k i znana jest ze stanu kopalnego w Japonii z osadów wieku plioceńskiego i plejstoceńskiego. W Chinach żyje dotychczas (Suan, M i k i 1952, str. 23).

2. *Trapa Hryniewieckii* n. sp. (Tabl. I, ryc. 8 i 9). Orzechy stosunkowo duże, do 45 mm w średnicy (mierzonej wzdłuż osi górnych kolców kielichowych), opatrzone czterema wyrostkami międzykielichowymi, słupkowatego kształtu, do 3 (4) mm długimi, wyraźnie złączonymi z nasadą górnych kolców kielichowych. Wyższe kolce kielichowe zwykle znacznie dłuższe od niższych, p r z e w ę ż o n e w g ó r n e j p o ł o w i e, wyciągnięte w długi i ostry wierzchołek. Niższe kolce kielichowe u nasady zwykle wcięte, stopniowo zaostrzone.

Gatunek ten zbliża się niewątpliwie do *T. septentrionalis* V. V a s s i l., różni się jednak od niego wybitnie obecnością czterech międzykolcowych wyrostków. *T. septentrionalis* występuje obecnie w rozproszonych stanowiskach w europejskiej części ZSRR (obszar Zawołża oraz Wołgi i Donu) oraz rzadko w Europie środkowej (Węgry) i południowej (Bałkan — Serbia, Italia). Charakter reliktowy posiada również zbliżająca się do *T. septentrionalis* lub nawet z nią identyczna *Trapa* z jeziora Ochryda oraz z innych jezior bałkańskich, podana przez G l ü c k a (1936) pod nazwą *T. natans* var. *compressa* G l k.. Jej stosunek do naszej *T. Hryniewieckii* wymaga zbadania na większym materiale, którego niestety nie miałem do dyspozycji.

Trapa Hryniewieckii n. sp. (Tabl. I, 8 i 9). *Fructus quadricornis, rhomboideus vel subrhomboideus, ad 4,5 cm latus. Cornua superiora elongato-ampullaeformia, cornua inferiora minora, basi leviter angustata. Inter cornua ad basin cornuum superiorum 4 tubercula magna, cylindrica vel subcylindrica adsunt. A. T. septentrionali* V. V a s s i l. *(species proxima) tuberculis ad basin cornuum superiorum valde differt.*

3. *Trapa* cf. *conocarpa* (A r e s h.) F l e r. (Tabl. I, 10). Jeden tylko okaz ok. 13,5 mm długi i 23,5 mm szeroki, z charakterystycznie wypukłą (sklepioną) górną częścią orzecha. Od typowej *T. conocarpa* różni się ten okaz posiadaniem dobrze wykształconej korony znaczkowej.

4. *Trapa Mikii* n. sp. (Tab. II, 8—10). Znaleziono trzy drobne orzechy, z których jeden jest uszkodzony (Tab. II, 10), drugi młody i niedo-

statecznie jeszcze rozwinięty, trzeci zaś wydaje się zupełnie normalnie rozwinięty (Tab. II, rys. 8 i 9), 26 mm szeroki. Orzech ten wykazuje niewątpliwie podobieństwo do *T. platycerata* M i k i, różni się jednak od niego (poza znacznie mniejszymi rozmiarami) jajowatym kształtem stosunkowo bardzo dużych wyrostków międzykolcowych oraz ich ściśle międzykolcowym położeniem. U *T. platycerata* wyrostki są mniej lub więcej stożkowate oraz pozostają one w związku z nasadą górnych kolców kielichowych.

T. Mikii n. sp. A. T. platycerata M i k i *fructu minore, cornibus minoribus, obtusatis, subito in mucronem transeuntibus atque tuberculis majoribus, ovuliformibus, valde differt.*

5. *Trapa* cf. *macrohilum* M i k i (Tabl. I, 11). Tylko dwa okazy uszkodzone w dolnej części i dlatego ich oznaczenie gatunkowe jest niepewne. Zarówno rozmiary (szerokie 15 mm) jak zwłaszcza bardzo charakterystyczny kształt górnej części orzecha i jego kolców kielichowych zdają się wskazywać na ich pokrewieństwo z *T. macrohilum* M i k i, gatunku opisanego z pliocenu Japonii (M i k i 1952).

6. *Trapa* cf. *colchica* A l b o f f. (Tab. II, 1). Tu zaliczono kilkanaście dobrze zachowanych orzechów, dłuższych aniżeli szerokich (długość ok. 21 mm, szerokość ok. 18 mm bez kolców), o krótkich, wysoko osadzonych, do góry wzniesionych górnych kolcach kielichowych. Wszystkie znalezione w stanie kopalnym orzechy tego typu leżą w pozycji bocznej, co pozostaje niewątpliwie w związku z ich znaczną długością.

Podobieństwo do *T. colchica* A l b o f f. wydaje się dość wyraźne, jednakże w braku materiału porównawczego sprawy tej ostatecznie na razie nie można rozstrzygnąć. *T. colchica* A l b o f f. żyje obecnie w europejskiej części ZSRR, w dorzeczu średniego i górnego biegu Dniepru, dolnego Donu i w obszarze czarnomorskim; nadto występuje również w niskich położeniach przykaukaskich (Kolchida i in.).

7. *Trapa* cf. *angusticerata* M i k i (Tab. II, 12). Kilka uszkodzonych okazów odznaczających się stosunkowo wąskimi i wydłużonymi kolcami dolnymi oraz grubymi kolcami górnymi, skierowanymi wyraźnie w górę. Orzech wysoki ok. 14 mm, szeroki ok. 11 mm (bez kolców). Cechy te zbliżają te okazy do *T. angusticerata* M i k i, znanej dotychczas tylko z pliocenu Japonii (M i k i 1952). Jedynie szeroką podstawą orzechów zdaje się różnić nasz materiał kopalny od gatunku M i k i' e g o.

W Ciechankach Krzesimowskich w Lubelszczyźnie w osadach równowiekowych z Żydowszczyzną (Masovien 1) znalazła B r e m ó w n a (1953 w rękopisie) obfity, morfologicznie uderzająco jednolity materiał rodzaju *Trapa*, składający się w ogromnej przewadze z kolców kielichowych (180 sztuk). Występują tu nadto 3 orzechy w bardzo młodych stadiach rozwoju, 2 orzechy większe, być może zupełnie rozwinięte oraz

kilka (4) dobrze zachowanych szczytowych części orzechów z szyjką i główkowatą koroną takiego kształtu, jakiego u żadnej innej formy *Trapa* nie zauważyłem. Głównie dla tej cechy podaję tu okazy te pod nazwą:

8. *Trapa capitulata n. sp. Fructus (maturus?) quadricornis ca. 13 mm lat. (sine spinis), ca 17 mm alt. (cum collo). Collum in parte superiore capitulatum. Corona nulla. Cornua striata, superiora paulo sursum vergentia, cito in mucronem transeuntia.*

Poza Ciechankami nie zauważono nigdzie podobnej formy. Zasługuje ona na dalsze badanie, zwłaszcza że można wątpić czy okazy, na których opiera się powyższa diagnoza gatunkowa, były okazami zupełnie wyrośniętymi.

Interglacjał młodszy (Riss-Würm, Masovien 2). W miejscowości Samostrzelniki (Bohatyrowicze) nad Niemnem zebrano dość obfity materiał kopalnych orzechów *Trapa* w osadach torfowych. Materiał ten jest doskonale zachowany i o wiele mniej sprasowany aniżeli starszy od niego materiał z Żydowszczyzny. Barwa orzechów jest tu znacznie jaśniejsza, brunatna. Niestety, ilość wszystkich okazów *Trapa*, pozostała w zbiorach w Krakowie, wynosi tylko 28, z czego tylko 7 przedstawia okazy niemal zupełnie nieuszkodzone.

Wśród nich można było wyróżnić:

1. *Trapa macropoda* Miki (Miki 1933 i 1952) (Tab. II, 5—7). Cechy tego gatunku są tak charakterystyczne, że oznaczenie to uważam za całkiem pewne. Orzechy (8) są duże ca 42 mm szerokie, (szerokość ich mierzona wzdłuż górnych kolców kielichowych), romboidalne. Górne kolce kielichowe bardzo tęgie i uderzająco szerokie, w zarysie trójkątne, z 4-ma wybitnie wykształconymi wyrostkami umieszczonymi po 2 u nasady każdego kolca. Kolce górne zbiegające w szerogą podstawę nasady bardzo wybitnymi żebrami. Dolne kolce kielichowe znacznie mniejsze i smuklejsze. Korona silnie wykształcona, 4-boczna, prezwężona w środku. Blizna szypułkowa wybitna, wystająca, czteroboczna, o brzegach nierównych.

T. macropoda Miki dziś jeszcze żyje w Japonii, zaś w stanie kopalnym znajdują się jej szczątki obficie w japońskich osadach plioceńskich i plejstoceńskich (Miki 1952).

2. *Trapa* cf. *rossica* V. Vassil. (Tab. II, 11). Z trzech orzechów zaliczonych do tego gatunku, jeden, przedstawiony na tablicy II, jest ok. 20 mm długi i 29 mm szeroki (z kolcami) i zbliża się najbardziej do polimorficznego gatunku *T. rossica* V. Vassil. (1949). Na drugim, nieco mniejszym wykształcone są słabo 4 wyrostki międzykolcowe.

T. rossica V. V a s s i l., odpowiadająca *T. natans* var. *media* G l ü c k (1936), żyje dziś w europejskiej części ZSRR w okolicy Czernichowa, w dorzeczu Oki, w okolicy Pensy, Rostowa i Stalingradu. Zapewne i u nas się znajdzie. Systematycznie zbliża się ona bardzo do *T. natans* L. (s. str.). Nasza kopalna forma podobna jest również (sądząc z fotografii) do *T. prenatans* K n o w l t o n, opisanej z pliocenu Ameryki Północnej.

7. ZESTAWIENIE OPISANYCH FORM KOPALNYCH I WNIOSKI DOTYCZĄCE ICH EWOLUCJI

Z n. podanego zestawienia wyłania się obraz przynależności większości opisanych kopalnych form rodzaju *Trapa* do w s c h o d n i o a z j a t y c k i e g o e l e m e n t u g e o g r a f i c z n e g o. Z tego jednakże nie wynika, że również c e n t r u m p o w s t a n i a tych gatunków należy — w myśl hipotezy M i k i'e g o (1950) — umieścić w Azji wschodniej. Wprawdzie teoretycznie można by przyjąć wędrówkę *Trapa* z Azji wschodniej do Europy w c z a s i e t r w a n i a p l i o c e n u g ó r n e g o i s t a r s z y c h i n t e r g l a c j a ł ó w, jednakże takie przypuszczenie jest mało prawdopodobne głównie ze względu na zaporę biologiczną w postaci wielkich obszarów Azji centralnej, które posiadały już w tym czasie klimat suchy, stepowy lub może nawet pustynny. O wiele bardziej prawdopodobne jest przyjęcie, iż nasze kopalne gatunki *Trapa* ciążące dziś geograficznie do Azji wschodniej, przedstawiają genetycznie element arktyczno-trzeciorzędowy typu eurazjatyckiego, który ze w s p ó l n e g o niegdyś obszaru macierzystego, położonego w trzeciorzędzie (miocen — pliocen) w ówczesnej umiarkowanej strefie kontynentu Eur-Azji, z powodu ogólnego oziębiania się klimatu wyruszył na południe, osiągając w p l i o c e n i e swe maksymalnie na południe wysunięte stanowiska, położone z jednej strony w Europie, z drugiej zaś strony w Azji Wschodniej. Nasze kopalne formy wschodnio-azjatyckie w tym świetle przedstawione są reliktami arktyczno-trzeciorzędowymi, typu eur-azjatyckiego.

Do tak prostego ujęcia rzeczy wprowadzić należy jedno ważne uzupełnienie. Oto największa obfitość form zarówno wyraźnie wschodnio-azjatyckich jak i europejskich, historycznie starych, zjawiła się w Europie nie w pliocenie, lecz dopiero w starszych interglacjałach. Powstaje zagadnienie: z jakich ostoi (refugiów) istniejących w Europie w okresie pierwszych 2 lub 3 glacjałów przybyły do Europy środkowej i północnej na tereny opróżnione przez lądolód w interglacjałach Tegelien, Masovien 1 i Masovien 2 formy rodzaju *Trapa*? W ślad za tym pytaniem nasuwa się drugie: czy interglacjały starsze były również okresami powstawania nowych gatunków rodzaju *Trapa* w Europie?

W poniżej umieszczonej tabeli zestawiono opisane w tej rozprawie formy kopalne rodzaju *Trapa:*

Wiek geologiczny	Nazwa gatunku	Miejsce znalezienia	Pokrewne gatunki
Miocen	*Trapa silesiaca* Goepp.	Śląsk (Polska)	—
Mio-pliocen	*Trapa* cf. *incisa* S. et Z.	Konin (Polska)	*T. incisa* S. et Z. (Azja Wschodnia) *T. mammilifera* Miki (pliocen — Japonia) *T. Maximowiczii* Korsh. (Azja Wsch.)
Pliocen dolny	*Trapa* cf. *incisa* S. et Z.	Krościenko (Polska)	jak wyżej
Interglacjał Günz-Mindel (Tegelien)	*Trapa* sp. *variae indeterm.*	Schwanheim (Niemcy)	?
Interglacjał Mindel-Riss (Masovien I)	*Trapa placycerata* Miki	Żydowszczyzna (ZSRR)	*T. platycerata* Miki żyjący w Chinach kopalny w Japoni
	Trapa Hryniewieckii sp. n.	Żydowszczyzna (ZSRR)	*T. septentrionalis* V. Vassil (Europa)
	Trapa cf. *conocarpa* (Aresh.) Fler.	Żydowszczyzna (ZSRR)	*T. conocarpa* (Aresh.) Fler.
	Trapa Mikii n. sp.	Żydowszczyzna (ZSRR)	*T. platycerata* Miki
	Trapa cf. *macrohilum* Miki	Żydowszczyzna (ZSRR)	*T. macrohilum* Miki (Japonia - pliocen)
	Trapa cf. *colchica* Alboff	Żydowszczyzna (ZSRR)	*T. colchica* Alboff (Europa, ZSRR)
	Trapa angusticerata Miki	Żydowszczyzna (ZSRR)	*T. angusticerata* Miki (Japonia pliocen)
	Trapa capitulata n. sp.	Ciechanki koło Lublina (Polska)	?
Interglacjał Riss-Würm (Masovien 2)	*Trapa macropoda* Miki	Samostrzelniki (ZSRR)	*T. macropoda* Miki Japonia; żyjąca i kopalna, pliocen i plejstocen
	Trapa rossica V. Vassil	Samostrzelniki (ZSRR)	*T. rossica* V. Vassil Europa: ZSRR, Polska

Na pierwsze z tych pytań dzisiaj odpowiedzieć możemy tylko ogólnie, przyjmując iż europejskie ostoje rodzaju *Trapa* w starszym plejstocenie położone były na wielkich obszarach niezlodowaconych części europejskiej ZSRR, Kaukazu, Bałkanu i południowo-zachodniej Europy. Co do drugiego pytania, to — jak sądzę — można na nie odpowiedzieć bardziej konkretnie przyjmując za prawdopodobne, że w obszernych pojezierzach interglacjalnych, zasianych tysiącami zbiorników wód stojących, zaistniały szczególnie korzystne warunki życia dla rodzaju *Trapa*. W jeziorach tych mogły znaleźć optymalne warunki bytu nie tylko przybyłe z ostoi plejstoceńskich niewątpliwe relikty plioceńskie, takie jak: *Trapa platycerata, T. macropoda, T. cf. macrohilum* i *T. cf. angusticerata*, — lecz mogły w tych warunkach powstać n o w e formy. Za takie nowe gatunki, powstałe w Europie w interglacjałach, można uznać z szeregu wyżej opisanych form: *T. Hryniewieckii, T. capitulata, T. Mikii, T. cf. colchica* A l b o f f oraz *T. cf. rossica*. Zakres form tego ostatniego gatunku, bardzo polimorficznego (posiada on również formy z 4 wyrostkami międzykolcowymi) był — być może ośrodkiem, z którego w procesie ewolucyjnym wyłonił się ostatni szereg form *Trapa*, określany dziś nazwą zbiorową *Trapa natans* L. Ewolucja tego szeregu form byłaby w tym ujęciu zjawiskiem historycznie najmłodszym, głównie holoceńskim.

W świetle powyższego rozumowania rodzaj *Trapa* wkroczył na drogę żywego ewolucyjnego zróżnicowania swych gatunków w Europie dopiero w pliocenie, jednakże proces ten nie tylko nie został przerwany przez silne oscylacje klimatyczne okresu plejstoceńskiego, lecz przeciwnie wzmógł się on wówczas znacznie, osiągając maksimum w interglacjałach starszych (Günz-Mindel czyli Tegelien i Mindel-Riss, czyli Masovien 1).

Dopiero w interglacjale ostatnim proces ten wyraźnie osłabł, lecz nie skończył się zupełnie, gdyż raz jeszcze wyłonił się w obrębie rodzaju *Trapa* szereg n o w y c h form w holocenie.

Jeżeli wnioskowanie to jest słuszne, to *Trapa* jest rzadkim przykładem rodzaju rośliny, którego główna aktywność ewolucyjna jest historycznie młoda i wiąże się wyraźnie przyczynowo z przemianami klimatu i siedlisk, jakie wprowadziła do Europy epoka lodowa.

Z Instytutu Botanicznego Uniw. Jagiell.
w Krakowie

SUMMARY

In the first chapter the author discusses the systematic position of the genus *Trapa* and its relation to the genera *Trapella* and *Hemitrapa*. The latter have nothing in common with the genus *Trapa* — as is known— except that their names sound similar.

In the next chapter the author, following the work of M i k i (1952), submits at first corrections of erroneous determinations of the fossil remains of plants (*T. borealis* H e e r = *Hemitrapa borealis* (H e e r) M i k i, and others), next he discusses the difficulties arising at the determination of fossil nuts belonging to the genus *Trapa*. As an illustration of these difficulties there serves the example quoted by the author of which it appears that out of fossil remains which passed through the author's hands only about 10% were suitable for specific determination.

In the chapter which deals with the morphological characters of nuts of the genus *Trapa* as the main basis for distinguishing the species, the author discusses the two different directions clearly represented in the contemporary systematics. One of them does not ascribe any important part to the very changeable morphological characters of the nuts (G a m s, G l ü c k, R i c z y n, and others). the other. on the contrary, is based on these very characteristics in the description of species (F l e r o w, W a s i l i e w, M i k i, and others). The author is of the opinion that the point of view of the latter group of scientists should rather be accepted as the right one. In consequence of such an admission he thinks that in the systematics of both the living and the fossil forms of the genus *Trapa* from Poland one should follow the way pointed out by W a s s i l i e w (1949) and M i k i (1952).

At the same time, however, the author postulates that it is necessary to investigate the variability of the morphological characters of nuts of the genus *Trapa* by means of the biometrical method. He proposes that in the investigations of that kind there should be used the comparative method of lines of shape, which has been worked out recently by J. J e n t y s - S z a f e r o w a (1951). The author himself does not apply this method and puts off such research to the future. that is until the moment when a properly collected material would be gathered of nuts of the genus *Trapa*. This concerns the forms living nowadays. as well as the polymorphic fossil ones which have been known so far from the Tertiary and the Quarternary. There arises the necessity of gathering a collections of this kind from the whole of Poland. since all the previous collections of *Trapa* were burnt in the fire of Warsaw in the II World War. At the same time the main manuscript of B. H r y n i e w i e c k i was also lost. in which the said scientist described monographically the genus *Trapa* from Poland and the neighbouring countries (H r y n i e w i e c k i 1950).

In the chapter considering the supposed centre of origin of *Trapa* on earth the author partly joins the opinion expressed by M i k i (1952) and accepts as the most probable the assumption that East Asia was the

native country of *Trapa*. His reservations concerning this hypothesis the author submits in the final chapter.

Before passing to a description of the fossil remains of *Trapa* from Poland and the neighbouring countries on the basis of his own materials the author devotes some critical remarks to analogical fossil remains described from Europe, Asia and North America.

In a separate, main chapter the author describes his own fossil remains of the genus *Trapa* among which he distinguishes the following species:

The Miocene: *Trapa silesiaca* Goepp. (Tabl. I, 1), being the only species known so far from Poland.

The Mio-Pliocene: *Trapa cf. incisa* S. et Z. (Tabl. I, 2) (from Konin in Central Poland).

The Lower Pliocene (Reuverian) Of the deposits at Krościenko on the river Dunajec the author described *Trapa cf. incisa* S. et Z. (Tabl. I, 3-5). These are the same specimens which were described by the author in 1947 under the name *Trapa natans var. tuberculata* Heer. *T. cf. incisa* from Krościenko approaches doubtlessly the East Asiatic species (*T. mammilifera* Miki, *T. Maximowiczii* Korsch.) while it stands in closest relation to *T. incisa* S. et Z., also an Asiatic species. Among the now-existing European forms the one that comes close to it is *T. carinthiaca* (Beck) V. Vassil. Its relation to the fossil *T. praecarinthiaca* V. Vassil remains still unexplained. While discussing the relationship of the fossil form of *Trapa* from the Lower Pliocene of Krościenko the author points also at its similarity to certain fossil forms described by Baas (1932).

The Oldest Interglacial (Günz-Mindel, Tegelien) the flora of which has been described lately by the author as discovered by him at Mizerna near Czorsztyn in the West Carpathian Mountains (Szafer 1953 and 1954 — now in print) has not supplied any fossil nuts of the genus *Trapa*, but only its pollen. In Germany in Schwanheim very rich represented (Baas 1936).

The Older Interglacial (Mindel-Riss, Masovien 1) possesses abundant fossil remains of the genus *Trapa*. They were at the author's disposal derived from the following localities: Żydowszczyzna on the river Niemen (Szafer 1932 and 1953) and Ciechanki in the district of Lublin (Brem, 1953, in manuscript). From these localities the author described the following species:

1. *Trapa platycerata* Miki (Tabl. I, 6 and 7), which still lives in China, and from Japan it has been described as fossil by Miki (1952) from many localities (Pliocene and Pleistocene ones).

2. *Trapa Hryniewieckii* n. sp. (Tabl. I, 8 and 9), approaching *T. septentrionalis* V. Vassil., but differing from the latter by the presence of 4 tubercles between the horns. A diagnosis of this new species is given in page 132 in the Polish text.

3. *Trapa* cf. *macrohilum* Miki (Tabl. I, 11) is represented by 2 damaged specimens only. *T. macrohilum* was described by Miki (1952) from the Pliocene of Japan.

4. *Trapa* cf. *angusticerata* Miki, (Tabl. II, 12), in several damaged specimens, which makes their specific determination uncertain. *T. angusticerata* was described by Miki (1952) from the Pliocene of Japan.

5. *Trapa* cf. *T. colchica* Alboff, (Tabl. II, 1), several well preserved specimens, a strict determination of which was judged by the author to be premature because of the lack of comparative material of nuts of *T. colchica,* and their still unexplained relation to *T. pseudocolchica* V. Vassil (1949).

6. *Trapa* cf. *conocarpa* (Aresh.) Fler. (Tabl. I, 10).

7. *Trapa Mikii* n. sp. (Tabl. II, 8-10), in 3 specimens only possessing very distinct characters. The Latin diagnosis is in page 131 of the Polish text.

In a locality called Ciechanki near Lublin, in the deposits of the Older Interglacial, the author ascertained the presence of one species only, which he stated to be a new one because of the distinctness of its characters and described it under the name:

8. *Trapa capitulata* n. sp. (Tabl. II, 2–4). (The Latin diagnosis is given in page 132 of the Polish text).

The Last Interglacial (Riss-Würm, Masovien 2) The material of this geological age has been previously collected by the author in a locality called Samostrzelniki (Bohatyrowicze) on the river Niemen (Szafer 1932). After a repeated investigation of the fossil nuts the presence of the following species has been ascertained:

1. *Trapa macropoda* Miki (Tabl. II, 5-7), a species known so far only from the Pliocene and Pleistocene deposits from Japan (Miki 1952). The specimens from Samostrzelniki show a considerable variability of characters, but, according to the author, they belong no doubt to these East Asiatic species.

2. *Trapa cf. rossica* V. Vassil. (Tabl. II, 11), in several specimens representing the only interglacial form which does not possess the 4 tubercles between horns. The fossil specimens approach the polymorphic *T. rossica* V. Vassil., and at the same time *T. prenatans* Dorf. (= *T. americana* Knowlton).

In the final chapter the author ascertains that in the Pliocene as well as in the older Interglacials of the Pleistocene period there lived in Poland, and most probably also in other regions in Europe, numerous species of the genus *Trapa*, today East Asiatic ones, or such as show a relation to the extinct East Asiatic and Caucasian species. If they were close to the European species it was to those which today have disjunctive areas in Europe and have the character of relics.

At the end of his paper the author discusses once more the thesis postulated by M i k i (1952) concerning the East Asiatic centre of origin of the genus *Trapa*. He is inclined to consider it as an arcto-tertiary element of the Eur-Asiatic type. The uncommon and rather unexpected richness of the fossil *Trapa* is very characteristic not only of the Pliocene and Pleistocene deposits in East Asia, but the same is true also in relation to Central and Northern Europe. One can accept the thesis that at that time both territories offered conditions of living favourable for the evolutional activity of the genus *Trapa*. These conditions exist till now in East Asia, especially in Japan and China, while in Central and Northern Europe they changed in the Pleistocene in consequence of repeated advances of successive Glacials: Günz, Mindel, Riss and Würm. This is true especially in relation to the plant communities developed on more or less dry ground, but it is not quite true in relation to aquatic plants which were far more resistant to the unfavourable changes of the climate during the Pleistocene. The genus *Trapa* is a very instructive example of this phenomenon. During the Interglacials *Trapa* developed an astonishing evolutional activity probably in the whole of Eur-Asia. But, while in East Asia *Trapa* has favourable conditions of living until today, and shows an insuperable richness of forms, both old and young ones, in Europe, on the contrary, it is now in decline and near extinction. For this state of things in Europe there is responsible not only man (who destryos his natural habitat) but above all the natural changes of climate in the last Glacial and in Postglacial period. Different conditions of living prevailed for *Trapa* in Central and Northern Europe in the Interglacials. At that time the appearance of innumerable glacial lakes as well as a most favourable climate which reigned especially during the two older Interglacials (Günz-Mindel and Mindel-Riss) caused conditions most stimulative for the evolution of the genus *Trapa*.

A more accurate and detailed description of these processes in the history od *Trapa*, as well as the recognition of the part which Europe played in the development of new forms must be left over to further investigations (comp. S z a f e r 1953).

CYTOWANA LITERATURA

Axelrod D. I., 1944. The Sonoma Flora in Pliocene Floras of California and Oregon. Carnegie Institution of Washington.

Baas J., 1932, Eine frühdiluviale Flora im Meinzer Becken. — Zeitschr, f. Bot. 25 Bd. Heft 6/7. Jena.

Conwentz H., 1892. *Trapa natans L. foss.*-Naturwissenschaft. Wohenschrift. Bd. VII. Berlin.

Dąbkowska I., 1929. Nowe stanowisko kotewki mucańskiej. — Acta Soc. Bot. Pol. Vol. VI, No. 4. Warszawa.

Dorf E., 1938, A late tertiary flora from Southwestern Idaho. Carnegie Institution of Washington. Publication. No. 476.

Engler A. — Diels L., 1936, Syllabus der Pflanzenfamilien. Berlin.

Flerow A. F., 1925. Sistematika i botaniczeskaja gieografja roda *Trapa* L. — Bull. du Jardin Botan. de la République Russe. T. XXIV. Leningrad.

Gams H., *Trapa* L. w wydawn.: Hegi G., Illustrierte Flora von Mittel-Europa. V Bd. 2 Teil. München.

Gams H., 1927, Die Gattung *Trapa* L. Die Pflanzenareale. I Reihe. Heft 3. Jena.

Glück H. 1941, Die Gattung *Trapella*. — Botan. Jahrbuch. 71 Bd. Stuttgart.

Goeppert H. R., 1855. Die tertiäre Flora von Schossnitz in Schlesien. Görlitz.

Hryniewiecki B., 1950, Kotewka czyli orzech wodny (*Trapa natans* L.). — Chrońmy przyrodę ojczystą. R. VI. Kraków.

Jentys-Szaferowa J., 1951, Graficzna metoda porównywania kształtów roślinnych (The graphical Method of Comparison of Plants Shape). — Kosmos. ser. A. Tom LXVI, z. I—III, 1948—1951. Wrocław.

Kirchheimer F., 1937, Grundzüge einer Pflanzenkunde der deutschen Braunkohlen. Halle (Saale).

Malmström C., 1920, *Trapa natans* L. i Sverige. — Svensk Bot. Tidskrift. Bd. 40. Heft 1. Stockholm.

Miki S., 1952 On the systematic position of *Hemitrapa* and some other fossil *Trapa*. — Palaeobotanist 1.

Miki S., 1952, *Trapa* of Japan with Special Reference to its Remains. — Journ. of the Inst. of Polytechnics, Osaka C. Univ. Vol. 3. Ser. D.

Muenscher W. C., 1944, Aquatic plants of the United States. Ithaca, New York.

Nakano H., 1914. Beiträge zur Kenntnis der Variationen von *Trapa* in Japan. Englers Bot. Jahrb., 50 Band.

Raciborski M., 1911. Drobiazgi florystyczne. *Trapa* (*natans* L. var.) *muzzanensis* Jäggi. — Kosmos, T. XXXVI. Lwów.

Riczyn J. W., 1948, Flora hygrofitow. Sowieckaja Nauka. Moskwa.

Szafer W. 1946, 1947, Flora plioceńska z Krościenka nad Dunajcem. The Pliocene Flora of Krościenko in Poland. — Wyd. Pol. Akad. Umiej. T. LXXII. D. B. Kraków.

Szafer W., 1951, Rodzina *Eucommiaceae* w trzeciorzędzie europejskim. The Family *Eucommiaceae* in the Tertiary of Europa. — Kosmos. Ser. A. T. LXVI. R. 1948—51. Wrocław.

Szafer W., 1953, Stratygrafia plejstocenu w Polsce na podstawie florystycznej. Pleistocene Stratigraphy of Poland from the Floristical Point of View. — Rocznik Pol. Tow. Geologicznego. T. XXII. Kraków.

Wassiljew W. N., 1949. *Hydrocaryaceae* Raimann w dziele: Flora ZSRR, tom XV. Wydawnictwo Akademii Nauk ZSRR. Moskwa-Leningrad.

Wassiljew W. N., 1950, Taksonomiczne znaczenie wegetatywnych i generatywnych organów w rodzaju *Trapa* L. (po rosyjsku). Botaniczeskije Materiali, Akademia Nauk SSSR, tom XIII, Moskwa-Leningrad.

TABLICA I

1. *Trapa silesiaca* G o e p p. Prawdopodobnie paratyp tego gatunku z kopalni węgla brunatnego „Florentyna" na Śląsku (zb. 1913 r., ze zbiorów Muzeum Państwowego Instytutu Geologicznego w Warszawie).
2. *Trapa cf. incisa* S. et Z. z osadów mio-plioceńskich (?) z miejscowości Konin (zb. B o b r o w s k a, ze zbiorów Instytutu Geologicznego w Warszawie).

3—5 *Trapa cf. incisa* S. et Z. z pliocenu dolnego (Reuverian), z Krościenka nad Dunajcem.

6 i 7. *Trapa platycerata* M i k i z Żydowszczyzny pod Grodnem (ZSRR), z interglacjału starszego (Mindel-Riss, Masovien 1).

8 i 9. *Trapa Hryniewieckii* n. sp. z Żydowszczyzny.

10. *Trapa cf. conocarpa* (A r e s h.) F l e r. z Żydowszczyzny.

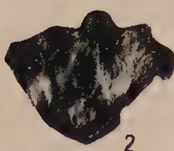
11. *Trapa cf. macrohilum* M i k i z Żydowszczyzny.

12. *Trapa cf. angusticerata* M i k i z Żydowszczyzny.

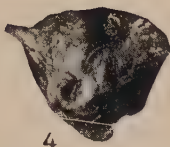
U w a g a: Wszystkie fotografie przedstawiają okazy kopalne w jednakowym powiększeniu około 1,5 ×

TABLICA I


1

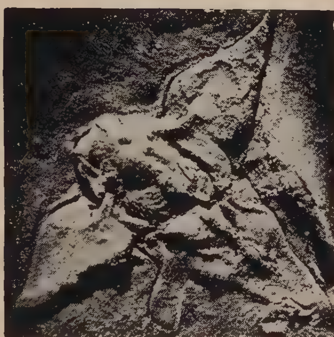

2


3

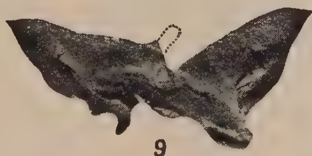

4

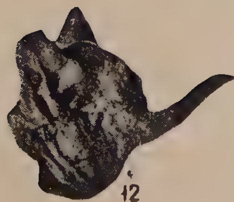

5

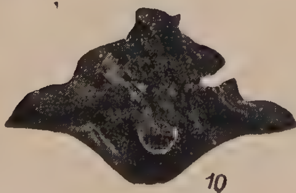

6


8


7

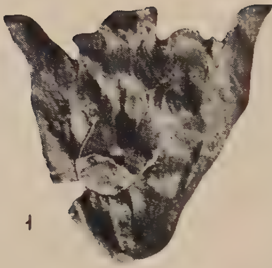

9


12

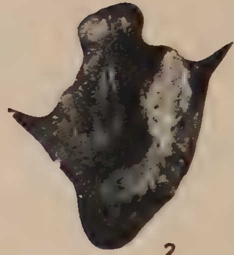

10

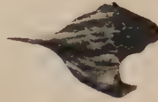

11

TABLICA II


1

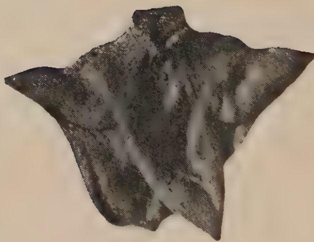

3

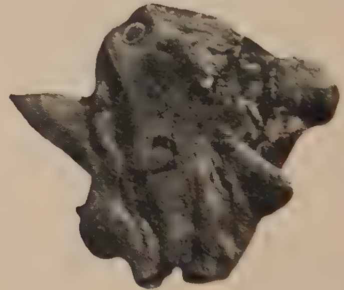

2

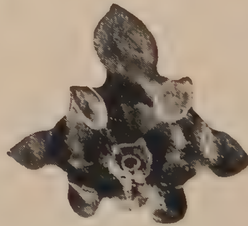

4


7

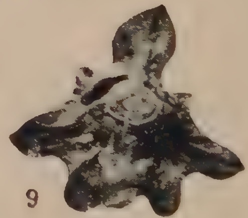

5


11


6


8


10


9

TABLICA II

1. *Trapa cf. colchica* Alboff z Żydowszczyzny.

2—4. *Trapa capitulata* n. sp. z miejscowości Ciechanki Krzesimowskie koło Lublina (zb. M. Bremówna), Interglacjał starszy (Masovien I).

5—6. *Trapa macropoda* Miki z Samostrzelnik (Bohatyrowicz) nad Niemnem (ZSRR); interglacjał młodszy (Riss-Würm, Masovien 2), ten sam okaz z obu stron.

7. *Trapa macropoda* Miki z Samostrzelnik, inny okaz widziany od dołu.

8—10. *Trapa Mikii* n. sp. z Żydowszczyzny (starszy interglacjał Mindel-Riss, Masovien 1).

11. *Trapa* cf. *rossica* V. Vassil. z Samostrzelnik (interglacjał młodszy, Riss-Würm, Masovien 2).

Wstępne badania nad aktywnością biologiczną niektórych frakcji humusu

Preliminary Studies on the Biologic Activity of some Humic Fractions

JERZY TROJANOWSKI

(Wpłynęło dn. 20.X.53 r.)

Dotychczasowe badania nad działaniem związków humusowych na organizm roślinny nie prowadzą do jednoznacznych wyników. Brak metod rozdzielania i wyodrębniania substancji humusowych w stanie niezmienionym chemicznie i wolnym od soli mineralnych, zmuszał badaczy do używania w doświadczeniach mieszanin substancji próchnicznych o nieznanym dokładnie składzie. Zarówno skład chemiczny jak i własności fizyko-chemiczne tych mieszanin zmieniają się przypadkowo w zależności od wyboru surowca wyjściowego i metody wyodrębnienia.

W nowszej literaturze, poświęconej temu problemowi, można wyróżnić następujące główne kierunki badań:

1) Obecności stymulatorów wzrostu w próchnicy dopatrują się niżej wymienieni badacze:

W. B. Bottomley (4) wykazał stymulujący wpływ próchnicy na rozwój rzęsy (r. 1920).

B. Niklewski i J. Duda (14) obserwowali działania chemotropiczne wyciągu z obornika i z torfu na korzeń gorczycy (r. 1936).

E. G. Pringsheim (17) wykrył w próchnicy glebowej obecność czynnika wzrostowego, niezbędnego dla niektórych wiciowców (r. 1936).

A. Kuthy i J. Pecznik (11) przyjmują, na podstawie badań nad działaniem wodnego wyciągu obornika na kiełkowanie owsa, że w wyciągu tym są obecne substancje wzrostowe (r. 1941).

S. Gumiński (8) wyraża przypuszczenie, że rozpuszczalna próchnica glebowa może być czynnikiem wzrostowym dla niektórych glonów i pierwotniaków. (1947).

M. A. Biber i N. S. Bogoliubow (1) wykazali stymulujący wpływ „kwasów humusowych" na wzrost korzeni kiełkującej kukurydzy. Efekt był wyraźniejszy, jeżeli użyto jako materiału wyjściowego czarnoziemu zamiast torfu (r. 1951).

2) Wielu badaczy przypisuje własnościom fizyko-chemicznym humusu doniosły wpływ na wzrost roślin. Pogląd ten wypowiadają m. in.

B. Dirks (5) uważa wielkość potencjału redukcyjno-oksydacyjnego gleby za czynnik warunkujący normalny wzrost roślin. Rolę nawozów organicznych upatruje wymieniony autor w utrzymywaniu tego potencjału na odpowiednim dla roślin uprawnych poziomie. Dirks wypowiada równocześnie pogląd, że w glebie nagromadzają się substancje należące do kompleksu humusu, trujące dla roślin (1940).

J. Wojciechowski (24) próbował wyłączyć ze składu pożywek sole żelaza i zastąpić je mieszaniną „kwasów humusowych". Wojciechowski podaje pozytywny wynik tej próby, przeprowadzonej na kulturach wodnych sałaty, tłumacząc go własnościami redukcyjno-oksydacyjnymi użytych substancji (1948).

S. Gumiński (9) twierdzi na podstawie pracy nad wodnymi kulturami pomidorów, że dodatek tzw. „humianu sodowego" umożliwiał normalny wzrost roślin w kulturach niewietrzonych. Jeżeli nie dodano tej substancji, rośliny w kulturach wodnych źle się rozwijały. Wietrzenie natomiast równoważyło brak wymienionego preparatu w pożywce (1950).

I. A. Geller (7) podaje w swej pracy ciekawy przyczynek do poznania warunków redukcyjno-oksydacyjnych w glebie. Autor ten stwierdził obniżenie potencjału redoks gleby w obrębie rizosfery roślin uprawnych (1952).

A. F. Tjulin i T. A. Małomachowa (20) przeprowadzili doświadczenia nad adsorpcją kwasu fosforowego przez glebę. Stwierdzili oni, że ilościowy efekt tej adsorpcji zależy od obecności nawozów organicznych. Autorzy podkreślają duże znaczenie związków żelaza z humusem dla przebiegu tej adsorpcji. (1952).

W. Wiliams (23) przypisuje próchnicy decydujący wpływ na utrzymanie gruzełkowatej struktury gleby, oraz podkreśla jej doniosłą rolę w życiu mikroflory glebowej.

3) Inna grupa badaczy uważa humus za czynnik sprzyjający odżywianiu roślin, zwiększający pobieranie soli mineralnych. Ten pogląd reprezentują:

R. Lieske (12) otrzymywał wzrost plonów pszenicy, buraków i ziemniaków pod działaniem humusu z węgla brunatnego (1932).

A. W. Błagowieszczenskij i A. A. Prosorowskaja (3) stwierdzili dodatni wpływ humusu na pobieranie azotu i potasu przez len (1934).

B. Niklewski (13) oraz B. Niklewski i J. Wojciechowski (15) podają, że wyciąg z torfu lub obornika przyspiesza pobieranie niektórych soli mineralnych przez rośliny wyższe a także stymuluje wzrost systemu korzeniowego i aparatu chlorofilowego.

4) Od przytoczonych wyżej poglądów bardzo różnią się wyniki ogłoszone przez:

E. E. Uspenskiego (22), który stwierdza, że rozpuszczone w wodzie jeziornej substancje humusowe wiążą szkodliwy dla glonów nadmiar soli żelazowych i w tym tylko leży ich znaczenie dla rozwoju glonów (1927).

F. Terlikowski i Byczkowski (19) są zdania, że kompost wpływa dodatnio na plon roślin uprawnych tylko dzięki obecności soli mineralnych w jego składzie (1938).

Już na podstawie tego krótkiego przeglądu niektórych nowszych prac nasuwa się przypuszczenie, że w próchnicy zawarte są różne czynniki, których aktywność biologiczna pojawia się lub zanika w zależności od obranej metodyki doświadczenia.

Dla rozwiązania tych problemów istotne jest opracowanie takich metod izolacji poszczególnych substancji humusowych, aby można było eksperymentować ze znanymi i chemicznie określonymi preparatami.

Wstępem do rozwiązania tego zagadnienia są prace:

W. A. C. Forsyth'a (6), w której zastosowano metodę analizy adsorpcyjnej do rozdzielania frakcji wodnej humusu,

oraz J. Trojanowskiego (21), w której przystosowano metodę chromatograficzną do rozdzielania frakcji alkoholowej humusu.

Niżej opisane doświadczenia miały na celu wstępne zbadanie aktywności biologicznej niektórych substancji, wyodrębnionych z frakcji wodnej i alkoholowej próchnicy, w warunkach niedoboru żelaza oraz przy normalnej zawartości żelaza w kulturach wodnych. Jako roślina doświadczalna służyła sałata (odmiana majowa).

PRZYGOTOWANIE PREPARATÓW HUMUSOWYCH.

I. Frakcja alkoholowa.

Substancje humusowe, dające się ekstrahować z torfu alkoholem były wyodrębnione głównie w oparciu o metodę chromatograficzną, przystosowaną do tego celu przez autora (21). Dla oczyszczenia od soli mineralnych stosowano elektrodializę.

Surowcami wyjściowymi do badań były 2 torfy niskie i 2 torfy wysokie. Przygotowanie poszczególnych preparatów z torfów odbywało się w następujących stadiach:

1) Wysuszony na powietrzu i rozdrobniony torf był uwalniany od substancji bitumicznych przez ekstrakcję eterem naftowym w temp. pokojowej. Dla całkowitego usunięcia bitumów konieczne było 40-to krotne powtórzenie ekstrakcji, przy użyciu 4-ro krotnej objętości eteru naftowego w stosunku do masy torfu przy każdym powtórzeniu.

2) Po wysuszeniu na powietrzu, wyekstrahowany eterem naftowym torf uwalniany był od soli wapnia i żelaza przez wypłukanie 0,2 n HCl i wodą destylowaną.

3) Po wysuszeniu przemytego wodą torfu na powietrzu, poddano go wyczerpującej ekstrakcji alkoholem etylowym (96%). Łącznie na 1 kg suchej masy torfu zużywano ok. 75 litrów alkoholu. Alkohol z poszczególnych ekstraktów był oddestylowywany aż do osiągnięcia temp. wrzenia 60° pod ciśnieniem 100 mm sł. Hg. Destylacja odbywała się w atmosferze azotu, ponieważ według W. A. Bibera (2) roztwory substancji humusowych mogą się utleniać na powietrzu.

4) Rozdzielenie wyciągów alkoholowych na frakcje uzyskano na kolumnach chromatograficznych; dokładny opis tego sposobu rozdzielania

substancji próchnicznych znajduje się w poprzednio ogłoszonej pracy autora (21). Jako adsorbent używany był tlenek magnezu „ciężki". Chromatogram rozwijano roztworem kwasu olejowego w alkoholu etylowym 96%, sporządzonym w stosunku objętościowym 1 : 7,5. W świetle ultrafioletowym obserwowano barwne warstwy fluoryzujące, których ułożenie i odcień fluorescencji były zależne od surowca wyjściowego. Do badań nad efektem biologicznym wyodrębniono I i II warstwę chromatogramu licząc od góry. W obrębie tych warstw była zaadsorbowana przeważająca ilość substancji zawartych w roztworze wyjściowym. Dalsze warstwy chromatogramu pozostawiono do późniejszego zbadania.

Barwy fluorescencyjne wyodrębnionych warstw były następujące:

Torf niski z Białowieży	I warstwa — brązowo rdzawa.
„ „ „ „	II warstwa — żółta.
Torf niski z Zemborzyc	I warstwa — brązowa.
„ „ „ „	II warstwa — ciemno żółta.
Torf wysoki z Chlebowa	I warstwa — brązowa.
„ „ „ „	II warstwa — jasno brązowa.
Torf wysoki z Białowieży	I warstwa — ciemno brunatna.
„ „ „ „	II warstwa — żółtawo brązowa.

5) Rurę szklaną z chromatogramem przecinano na części wyróżniające się w świetle ultrafioletowym. Poszczególne warstwy były wydobywane mechanicznie i zbierane oddzielnie.

Elucja adsorbenta następowała zwykle przez zalanie alkoholem etylowym, do którego powoli wkraplano kwas solny. Reakcja odbywała się w naczyniu zamkniętym; zawartość była stale mieszana mechanicznie. Tempo wkraplania kwasu było tak uregulowane, aby kwasowość roztworu nie przekroczyła pH 2. Adsorbent rozpuszczał się całkowicie, a uwolnione substancje humusowe zabarwiały alkohol na brązowo. Podczas reakcji przepuszczano przez naczynie strumień azotu.

W celu usunięcia kwasu olejowego, używanego do rozwijania chromatogramu, wytrząsano otrzymany roztwór wielokrotnie z eterem naftowym. Aby umożliwić rozwarstwienie 2 faz, dodawano uprzednio do roztworu alkoholowego 1/3 objętości wody.

6) Dla wytrącenia substancji humusowych z roztworu, wlewano go zwykle do 2-krotnej objętości wodnego 2% roztworu $CaCl_2$ i doprowadzano pH do wartości 6,8. Niektóre substancje można było wytrącić już przez rozcieńczenie roztworu alkoholowego 3-krotną objętością wody. Otrzymane tymi sposobami strąty odwirowywano i przemywano rozcieńczonym kwasem solnym i wodą na wirówce.

Odwirowane substancje po rozbełtaniu w wodzie i zakwaszeniu, były umieszczane w elektrodializatorze Brintzingera i dializowane aż do osiągnięcia stałego minimalnego natężenia prądu (od 20 do 40 mA przy napięciu 450 wolt). Stosowano membrany celofanowe, anodę platynową, katodę miedzianą. Poniżej umieszczam tabelę, w której wyszczególnione są wszystkie frakcje używane do doświadczeń z roślinami, wraz z krótkim opisem wyodrębnienia tych frakcji.

II. Frakcja wodna.

Oprócz frakcji alkoholowych humusu użyto również 2 frakcji wodnych próchnicy, które wyodrębniono, wzorując się na metodzie W. A. C. Forsyth'a (6).

Wszystkie preparaty suszono pod zmniejszonym ciśn. w temp. 60°.

WYSZCZEGÓLNIENIE FRAKCJI HUMUSU UŻYWANYCH DO DOŚWIADCZENIA Z SAŁATĄ

Torf	Symbol frakcji	Sposób wyodrębnienia
Torf wysoki z Chlebowa	Całość ekstraktu alkoholow.	Patrz przygotowanie roztworu wyjściowego do chromatografii. Izolowanie i oczyszczenie substancji zawartych w tym roztworze — p. punkt 6) powyżej.
,,	A_1	Subst. eluowana z I warstwy chromatogramu alkoholowym roztw. HCl, wytrącona chlorkiem wapnia, oczyszczenie — p. punkt 6).
,,	B_1	jak A_1 ale wytrącona z roztworu alkoholowego przez trzykrotne rozcieńczenie wodą.
,,	C_1	Subst. eluowana z II warstwy chromatogramu, alkoholowym roztw. HCl, wytrącona przez trzykrotne rozcieńczenie 0,05 normalnym HCl. Strąt wypłynął na powierzchnię w postaci brunatnej żywicowatej mazi, którą dalej oczyszczano zgodnie z punktem 6).
,,	D_1	Subst. eluowana z II warstwy chromatogramu roztworem kwasu olejowego w alkoholu, oczyszczona od resztek substancji z warstwy I przez powtórne chromatografowanie, eluowana następnie roztworem alkoholowym HCl. Oczyszczenie — p. punkt 6).
Torf wysoki z Białowieży	A_2	Subst. eluowana z I warstwy chromatogramu roztworem alkoholowym HCl. Oczyszczenie — p. punkt 6).
,,	B_2	Subst. eluowana z II warstwy chromatogramu roztworem alkoholowym HCl. Oczyszczenie — p. punkt 6).

Torf	Symbol frakcji	Sposób wyodrębnienia
Torf niski z Białowieży	A_3	Subst. eluowana z I warstwy chromatogramu roztw. alkoholowym HCl. Oczyszczenie — p. punkt 6).
,,	B_3	Substancja eluowana z II warstwy chromatogramu, roztw. alkoholowym HCl. Oczyszczenie — p. punkt 6).
Torf niski z Zemborzyc	A_4	Substancja eluowana z I warstwy chromatogramu roztworem alkoholowym HCl, oczyszczenie — p. 6).
,,	B_4	Subst. eluowana z II warstwy chromatogramu roztw. alkoholowym HCl. Wytrącona przez czterokrotne rozcieńczenie wodą. Oczyszczenie — p. 6).
,,	C_4	Frakcja otrzymana bez pomocy metody chromatograficznej. Otrzymano z torfu preparat humusowy metodą ekstrakcji szczawianem sodu według Simon'a (18). Preparat ten wyekstrahowano alkoholem etylowym, otrzymany roztwór tzw. dawniej „kwasu hymatomelanowego" zadano chlorkiem wapnia w roztworze wodnym. Osad uwolniono od wapnia i oczyszczano jak podałem w punkcie 6).
Torf niski z Zemborzyc — wyciąg wodny		Torf wypłukano rozc. HCl w celu usunięcia soli wapnia i żelaza. Ekstrahowano go następnie wodą destylowaną, zużywając 50 razy większą masę wody w stosunku do masy substancji organicznych zawartych w torfie. Przeprowadzono rozdzielenie substancji rozpuszczonych w wodzie przy pomocy metody adsorpcyjnej W. A. C. Forsyth' (6). Używany był w charakterze adsorbenta węgiel aktywny, marki Hopkins et Wiliams, London, „Charcoal purified for decolourising, activated". Przed użyciem adsorbent przemyto 0,1 normalnym HCl, acetonem i wodą. Otrzymano niżej wymienione 2 frakcje, których symbole są zgodne z symbolami użytymi przez Forsyth'a w jego pracy (6). Frakcji A i C, tak nazwanych przez w/w badacza, nie udało się z badanego torfu wyodrębnić.
,,	frakcja B w/g Forsyth'a)	Adsorbent był eluowany acetonem, acetonowy roztwór odparowywano do małej objętości, substancje humusowe wytrącano eterem, suszono w suszarce próżniowej w temp. 60°.
,,	frakcja D (w/g Forsyth'a)	Adsorbent po wypłukaniu frakcji B eluowano 0,5% roztworem NaOH. Substancje zabarwiające eluat na brązowo strącono roztworem chlorku magnezu. Odsączony osad rozpuszczono 0,05 n kwasem solnym i wytrącono ponownie, dodając równą objętość alkoholu etylowego. Suszono w suszarce próżniowej w temp. 60°.

Jak wynika z tabeli, wyodrębniono łącznie 14 różnych frakcji humusu, pochodzących z 4 różnych torfów. Z tego 10 frakcji udało się wydzielić przy pomocy metody chromatograficznej (21); dwie frakcje uzyskano według metody adsorpcyjnej (6); jedną frakcję otrzymano przez ekstrahowanie alkoholem preparatu humusowego, przygotowanego metodą Simon'a (18). Przygotowano poza tym preparat, zawierający mieszaninę substancji, które rozpuściły się w alkoholu podczas ekstrakcji torfu w opisanych warunkach. Ten ostatni preparat nazwano: *„całość ekstraktu alkoholowego"*.

Z otrzymanych substancji uważać można z pewnym prawdopodobieństwem za chemicznie jednorodne preparaty otrzymane na drodze chromatograficznej.

KULTURY WODNE

Przygotowanie pożywki.

W doświadczeniu stosowano 3 kombinacje pożywek:

1) pełna pożywka (Pfeffera-Knopa),
2) pełna pożywka + preparat humusowy,
3) pożywka z wyłączeniem soli żelaza + preparat humusowy.

Skład użytej pożywki Pfeffera-Knopa, jest w/g F. Honcampa (10), następujący:

w 1 litrze pożywki	$Ca(NO_3)_2$	— 1,30 g
	KNO_3	— 0,33 g
	KCl	— 0,16 g
	KH_2PO_4	— 0,33 g
	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	— 0,33 g

Do kombinacji z żelazem dodawano 2 krople 2% roztworu chlorku żelazowego na każdy litr pożywki.

Pożywki sporządzone były na wodzie destylowanej z naczyń cynowanych. Wartość pH pożywki przed doświadczeniem ustalono na 5,5 we wszystkich kombinacjach.

Preparaty humusowe dodawane były w stosunku 4 mg suchej substancji preparatu na 1 litr pożywki. Stosowane substancje humusowe były dodawane do pożywki w postaci roztworu. Roztwory preparatów sporządzano przez rozpuszczenie odważonej ilości substancji w określonej objętości 0,05 normalnego NaOH i niezwłoczne zobojętnienie roztworu mianowanym kwasem solnym. Dzięki temu wiadome było stężenie NaCl w roztworach poszczególnych preparatów. Do kombinacji bez humusu, dodawano tyle chlorku sodu, aby stężenie tej soli było jednakowe we wszystkich naczyniach.

Przebieg hodowli roślin.

Nasiona sałaty wykiełkowane w wodzie destylowanej na szalkach Petriego przeniesiono po upływie tygodnia na pożywkę. Rośliny umieszczone zostały po 4 w jednej erlenmajerce poj. 350 ml. Naczynia przed doświadczeniem wymoczono przez tydzień w 10% kwasie siarkowym oraz dokładnie wypłukano. Rośliny tkwiły dosyć swobodnie w wacie, którą zatkana była szyjka erlenmajerki. Zatyczka z waty zakładana była luźno, bez nacisku, jednak w sposób uniemożliwiający przedostanie się kurzu do wnętrza naczynia. Korzenie były zanurzone w pożywce, jednak część szyjki korzeniowej pozostawiono na powietrzu. Naczynia osłonięto czarnym papierem aby zabezpieczyć pożywkę przed rozwojem glonów. Pożywki w ogóle nie wietrzono.

Ilość powtórzeń dla poszczególnych kombinacji wynosiła 4, ilość powtórzeń kontrolnych — 10.

Naczynia ustawione były losowo w szklarni dobrze wietrzonej. W dni słoneczne szyby zasłaniano pergaminem. W tych warunkach doświadczenie trwało od 18.VI.52 do 14.VIII.52.

Przez pierwszy tydzień wzrost roślin przebiegał dość równomiernie. Następnie zaczęły się zarysowywać coraz wyraźniej różnice we wzroście roślin na pożywkach z żelazem i bez żelaza. Wszędzie tam, gdzie nie dodano do pożywki żelaza, wystąpiły w różnym nasileniu objawy chlorozy oraz zahamowanie wzrostu pędów i korzeni. Objawy te potęgowały się z upływem czasu. Rozpoczęło się schnięcie niektórych chlorotycznych roślin. Szczególnie silne zahamowania wzrostu obserwowano w naczyniach zawierających frakcje B i D w/g Forsyth'a. Natomiast wszystkie rośliny hodowane na pożywkach z żelazem, zarówno z próchnicą jak i bez niej, robiły wrażenie zdrowych, posiadały liście zielone i jędrne. Dowodziłoby to, że warunki hodowli były odpowiednie dla sałaty.

Pożywkę zmieniono dwukrotnie podczas doświadczenia, zachowując ściśle jej skład.

OBJAŚNIENIA DO TABLICY I.

* I — pH pożywki przed doświadczeniem.
pH of the nutrient solution before the experiment.

II — pH pożywki po 20 dniach doświadczenia.
pH of the nutrient solution after 20 days.

III — Potencjał redukcyjno-oksydacyjny pożywki przed doświadczeniem. (mV).
The redox potential of nutrient solution before the experiment. (mV).

IV — Potencjał redukcyjno-oksydacyjny pożywki po 20 dniach. (mV).
The redox potential of the nutrient solution after 20 days. (mV).

TABLICA I
Pomiary pH i potencjału redukcyjno-oksydacyjnego
Determinations of pH and redox potential

Torf Peart	Frakcja Fraction	I	II	III	IV
Torf wysoki z Chlebowa Sphagnum peat from Chlebowo	Pełny wyciąg alkohol. bez Fe Fuli alkohol extr. without Fe	5,5	5,7 — 5,9	530	539 ± 7
,,	Pełny wyciąg alkohol. + Fe Full alkohol extr. + Fe	,,	5,9	520	538 ± 5
,,	A_1 — Fe A_1 + Fe	,, ,,	4,8 5,9	540 537	571 ± 6 533 ± 5
,,	B_1 — Fe B_1 + Fe	,, ,,	5,3 5,7	521 511	535 ± 10 543 ± 5
,,	C_1 — Fe C_1 + Fe	,, ,,	5,3 5,7	513 520	566 ± 6 533 ± 3
,,	D_1 — Fe D_1 + Fe	,, ,,	5,3 — 5,5 6,2	523 528	551 ± 7 508 ± 2
Torf wysoki z Białowieży	A_2 — Fe A_2 + Fe	,, ,,	5,7 5,9	522 521	545 ± 7 543 ± 4
Sphagnum peat from Białowieża	B_2 — Fe B_2 + Fe	,, ,,	5,3 — 5,5 6,1	545 538	555 ± 7 513 ± 4
Torf niski z Białowieży	A_3 — Fe A_3 + Fe	,, ,,	5,2 — 5,3 5,8	531 503	541 ± 10 535 ± 7
Caricetum peat from Białowieża	B_3 — Fe B_3 + Fe	,, ,,	5,6 — 5,7 5,9	488 480	560 ± 5 548 ± 2
Torf niski z Zemborzyc	A_4 — Fe A_4 + Fe	,, ,,	5,0 — 5,2 5,9	523 520	568 ± 9 543 ± 6
Caricetum peat from Zemborzyce	B_4 — Fe B_4 + Fe	,, ,,	5,7 5,8	528 523	532 ± 10 508 ± 9
,,	C_4 — Fe C_4 + Fe	,, ,,	4,8 — 5,1 5,8	511 510	573 ± 8 548 ± 5
Wyciąg wodny wg Forsyth'a	B — Fe B + Fe	,, ,,	7,0 — 7,3 7,1 — 7,2	441 443	488 ± 8 484 ± 10
Fractions prepared after Forsyth	D — Fe D + Fe	,, ,,	7,0 7,0	460 453	487 ± 10 497 ± 2
Kontrolne bez humusu The control without humus		,,	5,0 — 5,7	488	546 ± 10
Pożywka bez Fe, bez humusu Nutrient sol. without Fe and humus		,,		491	

POMIARY I ANALIZY

Mierzono elektrometrycznie pH i potencjał redoks. Oznaczono suchą masę plonów z poszczególnych naczyń oraz zawartość żelaza w plonie i w pożywce. Pomiary potencjału redoks były wykonywane przy dostępie powietrza, ale czas i sposób wykonania był jednakowy dla wszystkich pomiarów, które mają wobec tego wartość porównawczą. Wartości pH były zmierzone przy użyciu elektrody szklanej, pehametrem lampowym marki „Polythronics". Potencjał redoks mierzono między elektrodą platynową a nasyconą elektrodą kalomelową, a następnie przeliczono na odpowiedni potencjał elektrody wodorowej w danej temperaturze. Wszystkich pomiarów nie można było przeliczyć na określony poziom wartości pH ponieważ nieznana jest zależność między zmianami pH a zmianami potencjału redoks dla roztworu badanych substancji, humusowych (5). Po każdym pomiarze elektroda platynowa była wyżarzona w celu usunięcia zaadsorbowanych substancji, mogących zmienić jej potencjał, zgodnie z uwagami B. D i r k s a (5), dotyczącymi pomiarów potencjału redoks próchnicy. Wyniki pomiarów pH i potencjału redoks podane są w tabeli I.

Jak wynika z tej tabeli, dodatek związków żelaza do pożywki zawierającej daną frakcję humusu, powodował w toku doświadczenia spadek wartości pH (w kierunku do 7), w porównaniu do odpowiedniej kombinacji bez żalaza. Zależności tej nie stwierdza się dla frakcji wodnych humusu. Natomiast widać, że frakcje wodne sprzyjały bardziej niż inne procesowi alkalizacji pożywki.

Potencjał redoks pożywek z próchnicą przed doświadczeniem leżał (z wyjątkiem wyciągu wodnego torfu i frakcji B_3 + Fe) zawsze powyżej potencjału samej pożywki bez humusu. Nasuwa się tu analogia do wyników B. D i r k s a (5), który w badanych przez siebie glebach wykazał obecność słabych utleniaczy.

Po 20 dniach doświadczenia większość kombinacji wykazała wzrost potencjału w granicach od 5 do 67 mV. Ten przyrost nie może być wszędzie wyjaśniony zmianami pH pożywki, które przeważnie były niewspółmiernie małe. Z tabeli I widać jednak, że niektóre kombinacje z próchnicą i żelazem w czasie trwania doświadczenia obniżyły nieco swój potencjał. Towarzyszące tym obniżkom zmiany pH nie pozwalają niestety wnioskować, czy przejawiły się tu własności oksydacyjno-redukcyjne roztworu.

Należy podkreślić, że badane f r a k c j e w o d n e h u m u s u w y b i t n i e o b n i ż y ł y p o t e n c j a ł o k s y d a c y j n y roztworów przed doświadczeniem i po doświadczeniu. Ta obniżka nie może być wyjaśniona zmianami pH, gdyż pH wszystkich roztworów przed doświadczeniem było równe.

Oznaczenie suchej masy plonu. Plon z poszczególnych naczyń był oddzielnie suszony w temp. 105° do stałej wagi. Obliczano średnią arytmetyczną dla każdej kombinacji. Wyniki z uwzględnieniem rozrzutu podane są w tabeli II. Z tej tabeli widać, że w kombinacjach z różnymi frakcjami próchnicy bez żelaza następowało bądź całkowite uschnięcie wszystkich roślin, bądź bardzo niskie plonowanie w stosunku do kombinacji z żelazem. Wyjątkiem od tego wyniku jest frakcja A_1, gdzie sucha masa plonu jest tego rzędu wielkości, jaką uzyskano w kombinacjach zawierających żelazo. Wyjaśnienie tego podane jest niżej.

Korzystny wpływ próchnicy w porównaniu z plonem kontrolnym zaznaczył się tylko w kombinacji B_4 + Fe. Natomiast na podstawie obserwacji rozwoju systemu korzeniowego można było stwierdzić korzystny wpływ niektórych frakcji próchnicy z dodatkiem żelaza na ten rozwój (patrz rysynek 1), oraz ujemny wpływ innych frakcji.

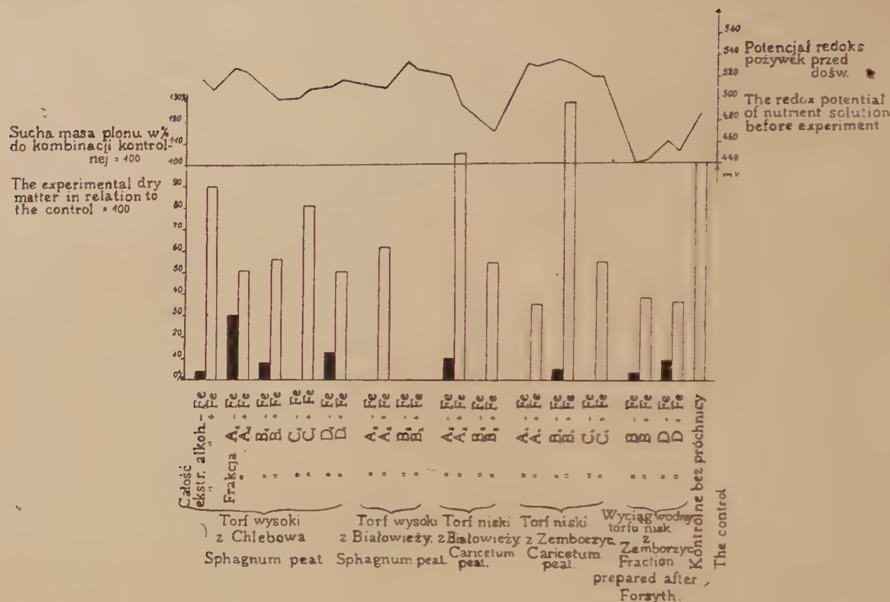
Wybitnie korzystny wpływ na rozwój systemu korzeniowego miała frakcja A_1 + Fe (Nr 1 na rysunku 1) oraz frakcja B_4 + Fe.



Rys. 1.

Wybitnie ujemny wpływ w tym kierunku wykazały frakcje wyciągu wodnego torfu (na rysunku ozn. Nr D); korzenie w tych kombinacjach miały wygląd długiej nitki o krótkich i nielicznych odgałęzieniach.

Oprócz wyżej wspomnianej frakcji A_1, wszystkie inne kombinacje bez żelaza wykazały słaby rozwój systemu korzeniowego (p. Nr 17 na rys. 1). Porównanie plonu i odpowiedniego potencjału redoks przedstawia diagram.



Rys. 2.

Oznaczenie zawartości żelaza w plonie.

Żelazo oznaczono kolorymetrycznie w suchej masie plonu i w roztworach z poszczególnych naczyń, po uprzednim zagęszczeniu. Stosowano metodę opisaną przez C. S. Pipera (16). Polega ona na spaleniu na mokro suchego materiału roślinnego przy pomocy mieszaniny kwasu azotowego, siarkowego i nadchlorowego. Otrzymany roztwór, odpowiednio przygotowany, zadaje się rodankiem, ekstrahuje alkoholem amylowym, a ekstrakt służy do kolorymetrii. Używano do tego celu fotokolorymetru uniwersalnego Langego, posługując się przy odczycie krzywą kalibracyjną, wykreśloną na podstawie skali wzorcowej.

OBJAŚNIENIA DO TABLICY II.

* I — Średnia sucha masa w gramach z jednego naczynia — kombinacje bez żelaza. Average dry matter in grams of one vessel — combinations without iron.

II — Średnia sucha masa w gramach z jednego naczynia — kombinacje z żelazem. Average dry matter in grams of one vessel — combinations + iron.

III — Sucha masa plonu z jednego naczynia kombinacji bez żelaza w % do plonu kontrolnego = 100.
Dry matter of one vessel (combinations without iron) in relation to the control = 100.

IV — Sucha masa plonu z jednego naczynia kombinacji z żelazem w % do plonu kontrolnego = 100.
Dry matter of one vessel (combinations + iron) in relation to the control = = 100.

TABLICA II

Sucha masa plonu. Dry matter.

Torf — Peat	Frakcja Fraction	I	II	III	IV
Torf wysoki z Chlebowa Sphagnum peat from Chlebowo	Pełny wyciąg alkoh. z torfu Full alkohol extract	0,024 ± 0,009	0,511 ± 0,155	4,2	89,8
,,	A_1	0,170 ± 0,090	0,292 ± 0,110	29,8	51,2
,,	B_1	0,046 ± 0,011	0,320 ± 0,107	8,1	56,1
,,	C_1	—	0,463 ± 0,124	—	81,2
,,	D_1	0,072 ± 0,027	0,285 ± 0,105	12,6	50,0
Torf wysoki z Białowieży	A_2		0,352 ± 0,150	—	61,7
Sphagnum peat from Białowieża	B_2	—	—	—	
Torf niski z Białowieży	A_3	0,056 ± 0,020	0,597 ± 0,172	9,8	104,7
Caricetum peat from Białowieża	B_3		0,309 ± 0,105	—	54,2
Torf niski z Zemborzyc	A_4	—	0,199 ± 0,090	—	34,9
Caricetum peat	B_4	0,025 ± 0,011	0,729 ± 0,210	4,4	127,9
from Zemborzyce	C_4	—	0,312 ± 0,147	—	54,7
Wyciąg wodny w/g Forsyth'a	B	0,021 ± 0,010	0,216 ± 0,090	3,7	37,9
Fractions prepared after Forsyth	D	0,051 ± 0,012	0,204 ± 0,085	8,9	35,8
Kontrolne bez humusu The control without humus			0,570 ± 0,132		100,0

Kwasy stężone, potrzebne do spalania, redestylowano z aparatury ze szkła Pyrex. Czas i sposób wykonania wszystkich analiz był ściśle jednakowy, co jest warunkiem dokładności wyników w tej metodzie. Spalanie na mokro, chociaż uciążliwe, jest konieczne, gdyż według C. S. Pipera przy spalaniu i prażeniu materiału roślinnego, część związków żelaza może się ulotnić (16).

Analizując całkowity plon z każdego naczynia z roślinami chlorotycznymi (kombinacje „bez żelaza") znaleziono w nim ilości żelaza wahające się w granicach od 0,02 do 0,048 mg. Znaleziona po likwidacji doświadczenia zawartość żelaza w roztworach odnośnych kombinacji wahała się od 0,0013 do 0,0022 mg w objętości 300 ml. Takie ilości żelaza były znalezione w kombinacjach, do których związków żelaza nie dodawano. Pochodzą one oczywiście z kumulujących się zanieczyszczeń odczynników, użytych do doświadczenia. Ilości te nie zapobiegały jednak wystąpieniu ostrej chlorozy odnośnych roślin. Kombinacja z frakcją A_1 („bez żelaza"), która dała najwyższy plon spośród kombinacji „bez żelaza" i umożliwiła rozwój bez chlorozy, zawierała 0,08 mg żelaza w plonie jednego naczynia. Była to więc najbardziej zanieczyszczona żelazem kombinacja „bez żelaza".

W plonie roślin hodowanych z dodatkiem żelaza i frakcji humusowych, zawartość żelaza w stosunku na 1 naczynie, wynosiła od 0,17 do 0,66 mg. W odnośnych pożywkach stwierdzono jakościowo duży nadmiar niezużytego przez rośliny żelaza. Rośliny te we wszystkich kombinacjach miały normalnie zielone liście.

Reasumując wyniki analizy na zawartość żelaza, należy stwierdzić, że kombinacje z frakcjami humusu „bez żelaza", cierpiały z wyjątkiem jednej, na ostrą chlorozę przy ogólnie im dostępnej ilości żelaza, wahającej się od 0,0213 do 0,0502 mg w jednym naczyniu.

Kombinacje z tymi samymi frakcjami humusu w pożywce, ale dysponujące normalną ilością żelaza, przewidzianą dla pożywki Pfeffer-Knopa, nie miały ani jednego wypadku chlorozy.

WNIOSKI

1) Użyte w doświadczeniu frakcje humusu nie mogą zastąpić niezbędnej dla normalnego wzrostu sałaty w kulturze wodnej ilości żelaza.

2) Użyte frakcje alkoholowe humusu nie stymulują wzrostu sałaty w kulturze wodnej w podanych warunkach (za wyjątkiem dwóch). Frakcja A_1 + Fe i frakcja B_1 + Fe wydatnie stymulowały rozgałęzienie systemu korzeniowego sałaty.

3) Użyte frakcje wodnego wyciągu z torfu hamowały wybitnie wzrost pędów i korzeni sałaty w podanych warunkach, co wyraziło się w niskim plonie tych kombinacji.

Wymienione frakcje wyciągu wodnego obniżały znacznie potencjał redukcyjno-oksydacyjny odnośnych roztworów w porównaniu z roztworem kontrolnym. Nasuwa się przypuszczenie, że niski potencjał pożywki w tych kombinacjach może być jednym z czynników obniżających plon.

4) Opisane frakcje alkoholowego wyciągu próchnicy mają zdolność zmieniania potencjału redukcyjno-oksydacyjnego pożywki w różnym stopniu. Korelacji między suchą masą plonu z danej kombinacji a potencjałem redukcyjno-oksydacyjnym badanej pożywki nie stwierdzono.

UZUPEŁNIENIE

W związku z dyskusją o działaniu próchnicy w warunkach beztlenowych, przeprowadzoną z Prof. Dr Gumińskim na Zjeździe PTB w Białymstoku w r. 1953, przytaczam poniżej wyniki tymczasowe nieukończonych jeszcze doświadczeń odnośnie tego problemu.

Roślina doświadczalna — sałata w kulturze wodnej.

Źródło próchnicy — preparaty kwasów humusowych i kwasów hymatomelanowych z torfu niskiego, w dawkach 40 mg na 1 litr. Czas doświadczenia 32 dni. Ilość pwtórzeń 6.

Wyniki:

I *Kombinacja* — Pożywka z próchnicą w warunkach beztlenowych (wygotowanie wody, odcięcie od powietrza przez warstwę parafiny płynnej, nalanej na powierzchnię pożywki po zanurzeniu korzeni)

Sucha masa pędów 0,221 g
Objętość korzeni 2,0 ml

II *Kombinacja — Pożywka bez próchnicy w warunkach beztlenowych*, utrzymanych jak w kombinacji I.

Sucha masa pędów 0,255 g
Objętość korzeni 0,8 ml

III *Kombinacja — Pożywka bez próchnicy — wietrzona.*

Sucha masa pędów 5,852 g.
Objętość korzeni 15,3 ml

IV *Kombinacja. — Pożywka bez próchnicy, niewietrzona*, posiadająca dostęp tlenu do powierzchni.

Sucha masa pędów 1,674 g.
Objętość -korzeni 8,4 ml.

V *Kombinacja. — Pożywka z próchnicą, niewietrzona*, posiadająca dostęp tlenu do powierzchni.

Sucha masa pędów 1,284 g.
Objętość korzeni 7,0 ml.

Wyniki prób z kilku innymi preparatami humusowymi były bardzo podobne.

Wydaje mi się zatem, że stosowane preparaty humusowe w opisanych warunkach nie mogą zastąpić wietrzenia wodnych kultur sałaty, względnie swobodnego dostępu powietrza do powierzchni pożywki.

Pełną publikację odnośnych danych przewiduje się po zakończeniu doświadczeń w przyszłym sezonie.

SUMMARY

On the basis of the literature quoted one can observe that various directions of researches have been adopted for elucidating the biological activity of the humus in relation to plant life.

Numerous investigators (4, 14, 17, 11, 8, 1) detect in the humus the presence of agents able of stimulating growth. Another group (5, 24, 9, 7, 20, 23) attributes this influence to some physico-chemical properties, characteristic of the humus (e. g. the redox potential) and consider those as the chief agents of plant development.

Some authors (12, 3, 13, 15) explain the positive influence exerted upon the crops by the capacity of the humus of facilitating the uptake of mineral salts by plants. The last assumption allows supposing that the biologic activity in the humus is related to a number of substances present in it. The content of these substances, as used by particular investigators proved to be casual, because the actual methods do not permit to obtain them in a state unaltered and chemically pure.

Preliminary attempts to elaborate a suitable method were carried out in the following studies:

by W. A. C. Forsyth (6) and by J. Trojanowski (21).

The method of Forsyth makes it possible to separate the hydrous extract of the humus into several fractions by means of adsorption on active coal. Trojanowski's method allows to isolate the substances present in an alcoholic humus extraction by means of chromatographic column filled with magnesium oxide.

The purpose of experiments described in the present paper was to study the biologic activity of some fractions isolated by means of both methods.

For experimental plant was used a salad grown in water and the Pfeffer-Knop nutritive solution. Following humus fractions were used:

1) from an aqueous extraction of a low (Caricetum) peat from Zemborzyce — fractions B and C (Forsyth's denominations),
2) from four different peats treated with alcoholic solutions — fractions separated by Trojanowski's method and determined as follows:

1) Peat I — high (Sphagnum-moss) peat from Chlebów

Fraction A_1 eluated from the first chromatogramm layer (first from the
Fraction B_1 top)
Fraction C_1
Fraction D_1 eluated from the second chromatogramm layer
Entire alcoholic extraction of Peat I.

2) Peat II — high (Sphagnum-moss) peat from Białowieża
Fraction A_2 eluated from the first chromatogramm layer
Fraction B_2 eluated from the second chromatogramm layer

3) Peat III — low (Caricetum) peat from Białowieża
Fraction A_3 eluated from the first chromatogramm layer
Fraction B_3 eluated from the second chromatogramm layer

4) Peat IV — low (Caricetum) peat from Zemborzyce
Fraction A_4 eluated from the first chromatogramm layer
Fraction B_4 eluated from the second chromatogramm layer
Fraction C_4 alcoholic extraction of a humus preparation obtained according to K. Simon (18).

A detailed description of the chromatographic isolation of the fractions quoted above has been published formerly (21).

Separate fractions were purified by electrodialysis and next dried under low pressure in the nitrogen atmosphere. During the treatment the value of pH was maintained in the limits from 6,7 to 2,0.

To the nutritive solutions were given an addition of humic preparations which amounted to 4 mg per 1 litre. The original pH value was estimated as 5,5.

Following three combinations were used in trials:

1) full rate of nutrient
2) full rate of nutrient + humic preparation
3) nutrient without Fe + humic preparation.

The plants had their root system buried in the solution. No aeration of the nutrient solution was given during the treatment. The nutrients were changed twice. The trials lasted from the 18th June till the 15th, August 1952.

Results of the pH and redox potential measurements, determinations of the dry matter are shown in Tables I and II.

In separate vessels and in residue solutions left after the trial the contents of iron were determined.

Combinations of humic fractions which were devoid of iron resulted in a severe chlorosis of the plants. This ocurred under conditions of a total quantity of Fe from 0,0213 to 0,0502 per 1 vessel of 300 ml of content, which quantities were due to unsufficiently pure reagents.

In experiments with the same humic fractions when their content of iron was such as usually in Pfeffer-Knop nutrients — no chlorosis has been observed.

Individual humic fractions influenced highly the development of roots; this is presented on fig 1.

Conclusions

1) The humic fraction as used in the described trials cannot compensate for the lack of required Fe, at least as far a salad grown under the above mentioned conditions is concerned.

2) All but two alcoholic humic fractions used during the experiments did not stimulate the growth of plants under the conditions described. Fraction A_1 + Fe and fraction B_4 + Fe stimulated obviously the root development of the plant.

3) The fractions extracted from peat by treatments with water checked visibly the growth of stems and roots under the conditions described consequently in these combinations and the salad crop was low.

The said fraction produced by a hydrous peat extraction reduced highly the redox potential in respective solutions when compared with the control solution. One can suppose that in these combinations the low potential in nutrients may be one of the yield reducing agents.

4) The described fractions extracted by treating humus with alcohol show the capacity of changing the redox potential in nutrients in various degrees. No correlation between the redox potential in nutrients and the dry matter yield in a given combination has been stated.

LITERATURA

1. Biber W. A., Bogoliubow N. S., Dokłady Akad. Nauk ZSRR. 1951, 76. 2.
2. Biber W. A., Dokłady Akad. Nauk ZSRR, 1952, 83, 1.
3. Błagowieszczenskij A. W., Prosorowskaja A. A., Bioch. Zeitschr. 1934.
4. Bottomley W. B., Ann. of Botany, 1920, 34.
5. Dirks B., Zeitschr. Bodenkunde u. Pfl.-ern., 1940, 21/22.
6. Forsyth W. A. C., Bioch. Journal, 1947, 47.
7. Geller J. A., Poczwowiedienije, 1952, 10, 921.
8. Gumiński S., Acta Soc. Bot. Pol., 1947, 18.
9. Gumiński S., Acta Soc. Bot. Pol., 1950, 20.
10 Honcamp F., „Handbuch d. Pfl.-ern. u. Düngerlehre". Berlin, 1931.
11. Kuthy A., Pecznik J., Bodenk. u. Pfl.-ern., 1941, 23.
12. Lieske R., Zeitschr. f. angew. Chemie, 1932.
13. Niklewski B., Bioch. Zeitschr., 1934, 271.
14. Niklewski B., Duda J., Bioch. Zeitschr., 1936, 286.
15. Niklewski B., Wojciechowski J., Acta Soc. Bot. Pol., 1938, XV.
16. Piper C. S., „Soil a. Plant Analysis". 1950, s. 340.
17. Pringsheim E. G., Beih. z. Bot. Centralbl., 1936, 55.
18. Simon K., Zeitschr. f. Pfl.-ern., 1929, 14.
19. Terlikowski F., Byczkowski, Roczniki Nauk Roln. i Leśn., 1938, 45.
20 Tjulin A. F., Małomachowa T. A., Poczwowiedienije, 1952, 6.
21 Trojanowski J., Annales Univ. M. C. Skłodowska, 1952, VI, 9, sec. C.
22 Uspenski E. E., Pfl.-forsch., 1927, 9.
23. Wiliams W., „Gleboznawstwo", wyd. polskie z r. 1950.
24. Wojciechowski J., Rozprawy Pol. Akad. Umiej. 1948, 73, dz. B.

Badania nad chromoplastami I. Przemiany morfologiczne plastydów w dojrzewających owocach

Studies on chromoplasts I. Morphological changes of plastids in the ripening fruit.

JAN ZURZYCKI

(Wpłynęło 27.X.53)

WSTĘP

Morfologia i struktura chromoplastów, stan barwników w tych plastydach i ich funkcja są stosunkowo słabo poznane, w przeciwieństwie do chloroplastów, gdzie problemy te są znacznie lepiej wyjaśnione. Nasze wiadomości z tej dziedziny opierają się głównie na wynikach starszych prac (Meyer 1883, Schimper 1883, 1885), które wielokrotnie wymagają rewizji i uzupełnienia zwłaszcza w związku z postępami biochemii barwników. W ostatnich latach daje się zauważyć wzmożenie zainteresowania chromoplastami (Straus 1942, Weier 1942, Roberts i Southwick 1948), wyniki nowych prac są jednak bardzo często sprzeczne.

W większości wypadków tematem badań są wykształcone chromoplasty. Wydaje się, że prześledzenie powstawania tych plastydów mogłoby dać znacznie więcej niż badanie tylko dojrzałych chromoplastów. Tego rodzaju rozwojowy punkt widzenia jest konieczny tym więcej, że ostatnio sugeruje się genezę chromoplastów zasadniczo różniącą się od dotychczas przyjmowanej (Kljuczariewa 1950).

Praca niniejsza ma na celu stwierdzić w jaki sposób i z jakich części komórki powstają chromoplasty i opisać zachodzące przy tym przemiany morfologiczne w plastydach.

MATERIAŁ I METODA

Badany materiał pochodził z Ogrodu Botanicznego U. J. (*Physalis alkekengi* L. *Sorbus aucuparia* L.) z Zakładu Ogrodnictwa U. J. (*Solanum lycopersicum* L. odmiana Freege 366) lub z okolic Krakowa (*Sambucus racemosa* L.).

Obserwacji dokonywano wyłącznie na świeżym materiale. Preparaty sporządzano w formie skrawków (u dojrzewających owoców) lub przez wypreparowanie małego wycinka tkanki i rozluźnienie komórek przez lekki nacisk szkiełka nakryw-

kowego (u dojrzałych owoców). Obiekty badano w wodzie. Czas obserwacji nie przekraczał nigdy 1 godziny od momentu sporządzenia preparatu.

Do obserwacji używano objektywu Zeissa aprochromat 90 × NA 1,4 i okularu 7 lub 10 ×. Pomiarów dokonywano przy pomocy okularu mikrometrycznego 15 ×. Do obserwacji i zdjęć używano filtrów niebieskich różnej intensywności.

WYNIKI

A. Typowe formy wykształconych chromoplastów

W dojrzałych owocach wybranych do badań gatunków roślin występują chromoplasty wyraźnie różniące się między sobą. Wydają się one stanowić przykłady pewnych zasadniczych typów budowy. Chromoplasty owoców 26 innych gatunków, które były obserwowane, dają się z mniejszym lub większym przybliżeniem podciągnąć pod jeden z tych czterech typów.

Sambucus. Chromoplasty stosunkowo małe około 2 μ średnicy, barwy żółtej lub jasno żółto-pomarańczowej o zarysie nieostro ograniczonym. Kształt ich bywa nieregularny, zwykle jednak zarys chromoplastów jest kolisty lub eliptyczny. Czasem, kiedy chromoplast jest zgnieciony między kulami tłuszczu, obficie występującego w komórkach dojrzałego owocu, miewa on kształt nieregularnego trójkąta. Barwnik w nieuszkodzonym chromoplaście skupiony jest w kulistych granach średnicy około 0,5 μ lub mniejszej, gęsto obok siebie ułożonych, nieostro odcinających się od tła, dlatego nie zawsze wyraźnie widocznych. Stroma zredukowana — trudno powiedzieć czy jest bezbarwna czy zabarwiona.

Barwnik zlokalizowany jest wyłącznie w chromoplastach. Nie obserwowano nigdy pojedynczych ziarenek barwnika w plazmie. Skupienie kilku chromoplastów może robić wrażenie barwnych złogów plazmy. Pod wpływem uszkodzenia występuje niekiedy dyfuzja barwnika na zewnątrz chromoplastów — wówczas jedna lub kilka sąsiadujących kul tłuszczowych zabarwia się jednostajnie na kolor żółty.

Physalis. Chromoplasty dość duże, kształtu dyskowatego, w widoku z góry o zarysie ± okrągłym i średnicy około 4 μ. Barwa intensywnie pomarańczowa, zarys bardzo ostro ograniczony, wyraźnie odcinający się od tła. Barwnik zebrany w formie wyraźnych gran jednakowej wielkości, średnicy około 5,0 μ, intensywnie pomarańczowych ± równomiernie rozmieszczonych w całej masie chromoplastu. Poza chromoplastami nie widać w komórce żadnych skupień barwnika.

Sorbus. Chromoplasty mają kształt igiełkowatych wrzecion najszerszych w środku lub równowąskich wzdłuż pewnego odcinka środkowego i zwężających się na obu końcach. Grubość wrzeciona średnio 1 — 2 μ, długość około 15 μ. Zarys ostro ograniczony od tła. Niekiedy igły roz-

szczepiają się na końcu lub nawet w środku dając utwory o trzech zaostrzonych końcach. Struktura homogeniczna lub niewyraźnie włóknista (na granicy widzialności mikroskopowej). W niektórych chromoplastach widać jaśniejsze, mniej intensywnie zabarwione miejsce o kształcie wydłużonej elipsy; podobne jaśniejsze trójkątne miejsca występują zazwyczaj w miejscu rozgałęzienia wrzeciona.

Solanum. Plastydy o kształtach dość zmiennych, zazwyczaj eliptycznych lub nieregularnych, mają średnicę wahającą się w szerokich granicach od 2 do 4 μ. Stroma bezbarwna lub lekko żółtawa. Barwnik występuje w formie nielicznych, zwykle pomarańczowych gran o średnicy 0,3 — 1 μ rozmieszczonych nieregularnie, lub w postaci żółto-pomarańczowych kryształków kształtu tępych igieł lub rombów. Kryształy te są zazwyczaj mniejsze niż średnica plastydów, czasem jednak rozciągają plastyd a nawet wysterczają z niego. Zbite skupienia większej ilości plastydów robią wrażenie barwnych złogów plazmy.

Poza chromoplastami barwnik występuje w plazmie w postaci licznych pomarańczowych gran oraz w postaci kryształów kształtu tabliczek lub taśm o różowo-czerwonym zabarwieniu. Kryształy te są często związane ze zdegenerowanym chromoplastem. Ich długość z reguły wielokrotnie przewyższa średnicę plastydu. Różnią się one od kryształów występujących wewnątrz plastydów, poza wielkością, barwą i kształtem także gęstością optyczną. Duże taśmowate kryształy są z reguły blade, więcej przepuszczalne dla światła.

B. Podział okresu rozwoju owocu.

Rozwój owocu od stadium kwitnienia do pełnej dojrzałości podzielono na 6 stadiów łatwych do scharakteryzowania już po wyglądzie zewnętrznym lub wymiarach. Stadium I to okres kwitnienia, owoc najbardziej zielony (maximum rozwoju wegetatywnego) jest w stadium III, stadium VI to stadium zupełnej dojrzałości.

Odnoszenie rozwoju plastydów do tak określonych faz rozwojowych a nie w stosunku do czasu rozwoju daje łatwiej powtarzalne wyniki, ponieważ uniezależnia od szeregu czynników wpływających na szybkość rozwoju owocu. W poniższym zestawieniu opisane są wybrane stadia rozwoju od I do VI dla każdego gatunku (w nawiasach podano przybliżony czas rozwoju owocu, rozpoczynając od pełni kwitnienia).

Sambucus.

I. Kwiat w pełni kwitnienia. Zalążnia około 1 mm średnicy.
II. Owoc jasnozielony 2,5 — 3 mm średnicy (2 — 3 tyg.).
III. Owoc żywo ciemnozielony, około 4 mm długości, w szczytowej części lekko zwężony (± 4 tygodnie).

IV. Owoc jasnozielony, prawie kulisty o średnicy 4,5 — 5 mm (± 6 tyg.).
V. Owoc o skórce czerwonej. Miękisz żółtawy. Komórki luźno związane, ale nie rozpływające się (około 8 tygodni).
VI Owoc dojrzały. Owoc intensywnie czerwony, pełen turgoru, o średnicy około 5 mm. Miękisz żółty, a komórki zupełnie rozpływają się. (10 — 12 tygodni).

Physalis.

I. Kwiat w pełni kwitnienia. Zalążnia około 1,5 mm średnicy.
II. Torebka 1 — 2 cm dług. zielona, jagoda około 4 mm średnicy, jasnozielona (± 2 tygodnie).
III. Torebka — 4 cm, zielona. jagoda około 10 mm jasnozielona (± 4 tygodnie).
IV. Torebka około 4 cm, barwy zielono-żółtawej, jagoda około 10 mm, bladozielona lub żółtawo-zielona (około 6—8 tygodni).
V. Wielkość jagody i torebki bez zmian. Barwa jasnopomarańczowa (8 — 10 tygodni).
VI. Owoc dojrzały. Wielkość bez zmian. Barwa torebki czerwono pomarańczowa, jagoda intensywnie pomarańczowa (około 12 tygodni).

Sorbus.

I. Kwiat w pełni kwitnienia.
II. Owoc wydłużony około 3 mm dł. jasnozielony (± 2 tygodnie).
III. Owoc żywo zielony lekko wydłużony, około 5 mm dług. 4 mm szer. (± 4 tygodnie).
IV. Owoc jasnozielony kulisty, około 7 mm średnicy (6 — 7 tygodni).
V. Owoc bladożółty. Miękisz żółto zielony lub jasnożółty. Wymiary jak poprzednio (± 8 tygodni).
VI. Owoc dojrzały około 7 mm średnicy. Miękisz intensywnie pomarańczowy (8 — 12 tygodni).

Solanum.

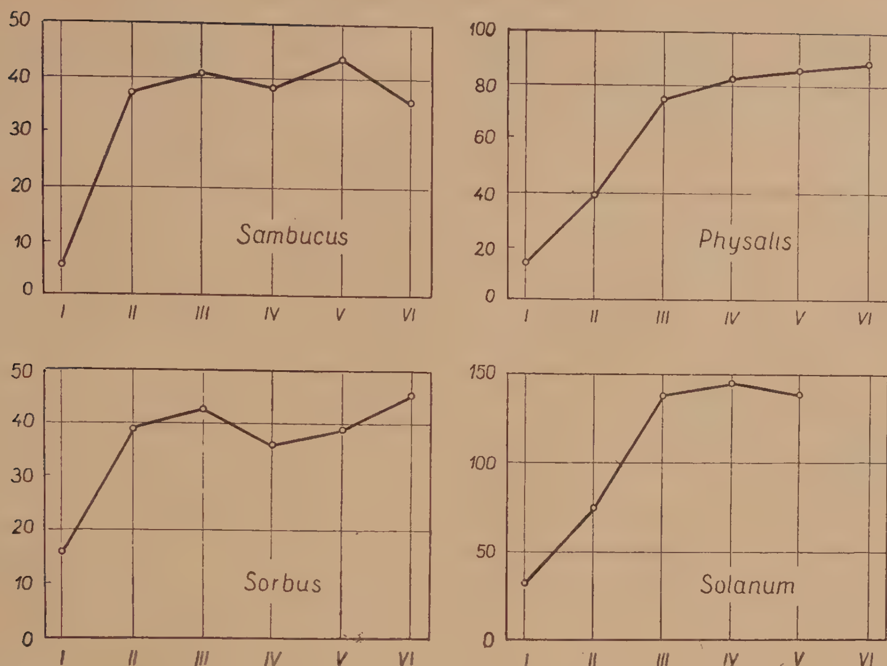
I. Kwiat w pełni kwitnienia. Zalążnia około 1 mm średnicy.
II. Owoc jasnozielony, kulisty, około 6 mm średnicy.
III. Owoc jasnozielony. W widoku z góry ± 3 cm średnicy.
IV. Owoc w widoku z góry ± 5 cm średnicy. Część przy szypułce ciemnozielona.
V. Owoc jasnopomarańczowy, u podstawy żółtozielony. Wymiary bez zmian.
VI. Owoc dojrzały, miękiej konsystencji. Wymiary jak poprzednio. Barwa skórki i miękiszu czerwona.

(W wypadku Solanum badano plastydy w komórkach leżących u podstawy owocu ze względu na małą ilość skrobii tu występującą).

C. Zmiany ilości plastydów w komórkach

Badanie średniej ilości plastydów w komórce odbywało się drogą liczenia plastydów w 50 komórkach dla każdego z wybranych 6 stadiów. Wyniki przedstawia ryc. 1.

W stadium I u wszystkich roślin badanych liczenie plastydów jest bardzo utrudnione ze względu na ich małe wymiary i złą widoczność. Stąd wynik jest przypuszczalnie obarczony bardzo dużym błędem. Również trudno jest określić ilość chromoplastów u *Sambucus* w okresie VI, gdyż są one często przesłaniane przez liczne krople tłuszczu wypełnia-



Ryc. 1. Zmiany ilości plastydów podczas rozwoju owoców. Odcięte — okres rozwoju owoców, rzędne — średnia ilość plastydów w komórce.
Changes in number of plastids as fruit ripen. Abscissae — stage of ripening, ordinates — average number of plastids in cell.

jące komórkę. Wyraźny spadek krzywej w tym stadium można przypuszczalnie tłumaczyć pominięciem niektórych plastydów przy liczeniu. U *Solanum* w stadium VI nie jest możliwe w ogóle stwierdzenie ilości plastydów, ze względu na ich przemiany morfologiczne, jakie w tym okresie mają miejsce.

Jak widać z wykresów ilość plastydów początkowo mała (w komórkach zalążni) szybko rośnie i osiąga już w stadium II *(Sambucus, Sorbus)* lub III *(Physalis, Solanum)* wartość stałą, która zachowuje się w dalszym okresie rozwoju owocu. Oznacza to, że:

a) podziały plastydów (a przynajmniej podziały odbywające się na szerszą skalę) zostają zakończone we wczesnych stadiach rozwoju owocu, a w każdym razie równocześnie z osiągnięciem maksimum rozwoju wegetatywnego (stadium III).

b) średnia ilość chromoplastów w komórkach dojrzałego owocu jest prawie zawsze taka sama jak średnia ilość chloroplastów po zakończeniu ich podziałów.

Bezwzględna ilość plastydów w komórkach owocu jest u różnych gatunków różna i wynosi np. u *Sambucus* i *Sorbus* około 40, *Physalis* oko-

ło 80, u *Solanum* około 140. Wahania indywidualne w poszczególnych komórkach są bardzo duże (np. *Physalis* stadium V, średnio 86 chloroplastów, wahania 60—127, *Solanum* stadium V — średnio 144, wahania 73—248).

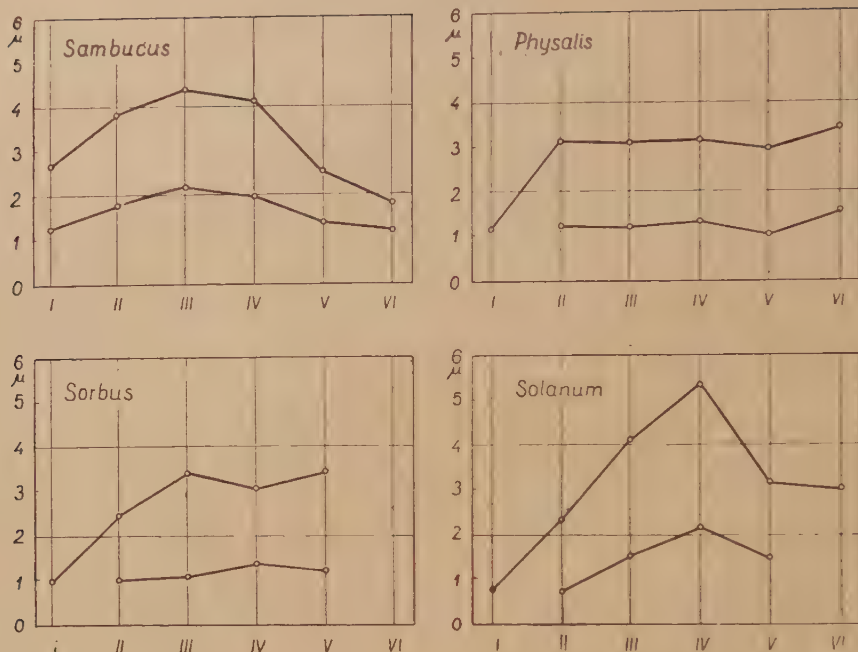
D. Zmiany kształtu i wielkości plastydów

Sambucus. W komórkach zalążni (stadium I) plastydy są względnie duże (około 3 μ średnicy), blado zielone lub prawie bez zabarwienia, o kształcie dyskowatym, słabo oddzielające się od plazmy. Struktury żadne nie wykazują (Ryc. 3). W stadium II chloroplasty są większe, kształtu dyskowatego, zielone, ze słabo widoczną strukturą granową (Ryc. 4). Wielkość chloroplastów osiąga maksimum w stadium III. Chloroplasty mają wówczas około 5 μ średnicy, kształt pozostaje bez zmian, zabarwienie intensywnie zielone. Struktura granowa bardzo wyraźna. Liczne zielone grana mają około 0,5 μ średnicy (Ryc. 5). W stadium IV chloroplasty stają się mniejsze, oraz mniej intensywnie zabarwione. Struktura granowa widoczna ale nie tak wyraźna jak w stadium poprzednim (Ryc. 6). Znaczne zmniejszenie plastydów obserwuje się w stadium V. Zarys ich jest okrągły, eliptyczny lub nieregularny, barwa żółtozielona. Barwiki zebrane w niewyraźnych, żółtozielonych ziarnistościach o rozmytych zarysach (Ryc. 7). W tym stadium struktura plastydów jest bardzo nietrwała i łatwo ulega uszkodzeniu przy sporządzaniu preparatu. Można wówczas obserwować obok zielonkawego plastydu kuliste krople silnie łamiące światło o kolorze żółto pomarańczowym. (Ryc. 10). Są to przypuszczalnie produkty odmieszania, zawierające żółte barwiki. W stadium VI plastyd jest jeszcze bardziej skurczony, o zarysie nieregularnym zwykle zbliżonym do kolistego. Kontury nieostre. Cały chromoplast zabarwiony na kolor żółtopomarańczowy. Intensywne skupienia barwika w postaci ziarenek o wymiarach około 0.5 μ lub mniejszych są pogrążone w stromie. (Ryc. 8, 9). Ryc. 2 przedstawia zmiany wymiarów plastydów (średnie średnice i średnie grubości) obliczonych jako średnia pomiarów 30—50 plastydów z różnych komórek. Widoczne są bardzo wyraźne zmiany wymiarów a co za tym idzie, masy plastydów w ciągu ich metamorfozy.

Physalis. Komórki zalążni (stadium I) mają plastydy bardzo małe, około 1 μ średnicy, bezbarwne lub lekko bladozielone, kształtu kulistego lub prawie kulistego. (Ryc. 11). W stadium II chloroplasty zwiększają swe wymiary, przybierają kształt dyskowaty, barwę bladozieloną bez wyraźnej lub z niewyraźną strukturą granową. (Ryc. 12). Struktura ta w stadium III staje się bardzo wyraźna i kontrastowa. (Ryc. 13). W dalszym rozwoju (stadium IV) plastydy są początkowo jeszcze bladozielo-

ne, z niewyraźną, jakby zamazaną strukturą granową. W okresie tym pojawiają się ostro zarysowane pomarańczowe ziarenka 0,5—1,5 μ średnicy. Później zielona barwa gran staje się coraz bledsza, wreszcie zanika zupełnie. Zarys plastydu ogranicza tylko kilka pomarańczowych ziarenek umieszczonych prawie wyłącznie na obwodzie plastydu. (Ryc. 14. 15). W stadium V stroma jest już całkowicie bezbarwna. Pomarańczowe ziarenka przy brzegach zlewają się ze sobą, tworząc dwa lub więcej skupień albo jedno pasmo półksiężycowate lub pierścieniowe, zajmujące brzegi plastydów, a złożone z licznych tuż koło siebie leżących, pomarańczowych gran (Ryc. 16, 17). Dojrzałe chromoplasty (stadium VI) mają kształt dyskowaty, barwę intensywnie pomarańczową. Wypełnione są całkowicie zwartą masą ziarenek o średnicy 0,5—1 μ, silnie łamiących światło W niektórych plastydach część centralna posiada rzadziej ułożone grana. (Ryc. 18, 19). Jak wynika z ryc. 2 wielkość plastydów osiąga w stadium III stałe wymiary, które nie ulegają zasadniczym zmianom w dalszym rozwoju.

Sorbus. Plastydy zalążni (stadium I) — bardzo małe, około 1 μ średnicy, bezbarwne, trudno widoczne; kształt kulisty lub zbliżony do kulistego. (Ryc. 20). W stadium II chloroplasty są już znacznie większe, blado zielone, dyskowate z b. słabo widoczną strukturą granową. (Ryc. 21). Struktura ta staje się nieco wyraźniejsza w stadium III (grana mają średnicę około 0,3 μ). Kształt staje się bardziej jeszcze spłaszczony, barwa żywo zielona. (Ryc. 22). W stadium IV plastydy mają zarys okrągły lub eliptyczny. Struktura granowa b. słabo widoczna. Niektóre grana wydają się wyraźniejsze, ciemniejsze od pozostałych, o barwie bardziej żółtawej. (Ryc. 23). Pod wpływem uszkodzeń, w tej i w następnej fazie, lipoidy ulegają łatwo odmieszaniu i wypływają w postaci żółtych kropel na zewnątrz słabo żółtozielono zabarwionej stromy. (Ryc. 29, 30). W dalszym rozwoju (stadium V) chromoplasty stają się pomarańczowożółte o kształcie nieregularnym, wrzecionowato wydłużonym około 4—6 μ długości. Struktura ziarnista słabo widoczna; plastyd albo całkowicie homogeniczny, albo widoczne jeszcze silniej zabarwione ziarnistości tkwiące w jednorodnej, również zabarwionej masie. (Ryc. 24, 25). Łatwe uszkodzenia, widoczne w formie odmieszania, jak w fazie poprzedniej. Dojrzałe chromoplasty (stadium VI) mają postać igiełkowatych wrzecion około 15 μ długości i są intensywnie zabarwione na kolor pomarańczowy. Są one zupełnie homogeniczne. Niekiedy, zwłaszcza w wcześniejszym okresie widoczna jest b. niewyraźna struktura włókienkowa. (Ryc. 26—28). Na ryc. 2 podano zmiany wymiarów tylko do stadium V włącznie. W tym ostatnim okresie średnice mierzono na możliwie regularnych eliptycznych plastydach. Od stadium III do V wymiary, a zatem masa plastydów, nie ulegają zmianie. Przypuszczalnie także wydłużeniu chro-



Ryc. 2. Zmiany wymiarów plastydów podczas rozwoju owoców. Odcięte — okres rozwoju owocu, rzędne — średnia średnica i grubość plastydu w μ.
Changes in dimensions of plastids as fruit ripen. Abscissae — stage of ripening, ordinates — average diameter and thickness in μ.

moplastu we wrzeciono nie towarzyszy zasadnicza zmiana objętości, gdyż jak wykazuje prosty rachunek objętość elipsoidy obrotowej o wymiarach 3,2 × 1,2 μ (6,4 μ^3), którą można traktować jako srednią objętość chloroplastów w stadium III — V, jest bardzo zbliżona do objętości wrzeciona o wymiarach średnich dla rozwiniętych chromoplastów (dług. 14,8, szer. 1,08μ, objętość około 5,3 μ^3).

Solanum. Leukoplasty kwiatu (stadium I) bardzo małe do 1 μ średnicy, bezbarwne, kuliste, zyskują w dalszym rozwoju zabarwienie blado zielone. (Ryc. 31). W stadium II wymiary ich wynoszą około 2,5 μ średnicy, struktura granowa już staje się widoczna ale niezbyt wyraźna. (Ryc. 32). W stadium III chloroplasty w podstawowej części owocu wolne od skrobii są zielone dyskowate, o wyraźnej strukturze granowej. (Ryc. 33). W pozostałych częściach owocu chloroplasty zawierają duże ilości skrobii. Wymiary chloroplastów wzrastają jeszcze w stadium IV do 5—6 μ średnicy. Kształt typowy, barwa żywozielona, grana wyraźnie widoczne ,około 0,5 μ średnicy. Struktura granowa jest w tym stadium tak kontrastowa i łatwo dostrzegalna, że owoce w tym okresie mogą stanowić doskonały materiał do demonstracji budowy granowej. (Ryc. 34).

W późniejszym okresie (stadium V) wymiary plastydów stają się nieco mniejsze, barwa przechodzi w jasnozieloną, struktura granowa rozmyta. Pojawia się kilka małych (0,5—1,5 μ) wyraźnie pomarańczowych ziarenek o zarysie okrągłym lub wielokątnym (sztabkowatym). (Ryc. 36). Przy przygotowywaniu preparatu łatwo następuje uszkodzenie plastydów przejawiające się zazwyczaj w tworzeniu wakuoli. W późniejszym okresie tego stadium stroma staje się zupełnie bezbarwna i jest trudno dostrzegalna, a w niej tkwią jeden lub dwa (rzadziej więcej) igiełkowate pomarańczowe kryształki. Do tego okresu nie widać w komórce barwika poza chromoplastami. (Ryc. 37). W dojrzałych owocach *Solanum* (stadium VI) plastydy mają kształt nieregularny. Stroma zabarwiona na żółto lub pomarańczowo zawiera większą lub mniejszą ilość ciemniejszych ziarnistości i zwykle jeden lub kilka igiełkowatych lub rombowych pomarańczowo-żółtych kryształków. Poza plastydami barwik znajduje się w plazmie w postaci ziarenek o średnicy 0,5—1 μ podobnych do tych, które spotyka się w stromie plastydów i prawdopodobnie pochodzących z rozpadu plastydów. W końcowym okresie dojrzewania pojawiają się w plazmie, obok żółto pomarańczowych kryształków także i inne barwy różowej. Powstają one tylko w niektórych plastydach i szybko rosnąc wyswobadzają się ze stromy plastydu. Bardzo rzadko można obserwować w jednym chromoplaście oba rodzaje kryształów. W dojrzałym owocu różowe kryształy występują czasem w ścisłym kontakcie z plastydem, ale najczęściej leżą zupełnie luźno obok chromoplastów. Wymiary ich przewyższają wymiary plastydów (około 20 μ dług. i 2—3 μ szerok.). Zarys ich jest płytkowaty lub taśmowaty. (Ryc. 38—42).

Zmienność wymiarów plastydów (ryc. 2) wykazuje u *Solanum* pewne analogie do *Sambucus* — przede wszystkim redukcję objętości plastydu w okresie przemiany w chromoplast.

DYSKUSJA

Przytoczone obserwacje potwierdzają dawny pogląd o powstawaniu chromoplastów drogą metamorfozy innych plastydów (Meyer 1883, Schimper 1883, 1885). W opisanych przypadkach powstają one przez metamorfozę chloroplastów. Świadczy o tym zarówno identyczna ilość chloroplastów i chromoplastów w komórkach jak również obserwacje kolejnych przemian plastydów. W żadnym z 4 zbadanych przypadków nie stwierdzono opisanej przez Kljuczariewę (1950) degeneracji, pęcznienia i zaniku chloroplastów i powstawania ziarenek karotenoidowych de novo w plazmie, jakkolwiek czasem, zwłaszcza gdy stroma jest bezbarwna i trudno dostrzegalna, pojawienie się w niej barwnych gran może robić wrażenie, że grana te powstają luźno w plazmie.

Chromoplasty powstają z chloroplastów, przy czym z każdego chloroplastu powstaje jeden chromoplast. Ilość chloroplastów w maksimum rozwoju wegetacyjnego determinuje zatem ilość chromoplastów w dojrzałym owocu. Obliczenia statystyczne nie wykluczają możliwości degeneracji względnie podziałów niektórych plastydów w okresie przemiany, ale zjawiska takie jeśli mają miejsce, są sporadyczne bez znaczenia statystycznego.

Wspólną cechą przemian przy powstawaniu różnych typów chromoplastów jest zmniejszenie (lub zanik całkowity?) ilości chlorofilów a zwiększenie ilości barwików karotenoidowych (G o o d w i n 1952). Pojawianie się barwików pomarańczowych w pewnych wypadkach już wówczas gdy plastyd jest jeszcze intensywnie zielony, w innych dopiero gdy stroma jest już zupełnie bezbarwna, zdaje się przemawiać przeciw istnieniu związku genetycznego pomiędzy karotenoidami a chlorofilem. Ilościowym zmianom barwików towarzyszy przypuszczalnie zmiana struktury submikroskopowej. Faza lipoidowa jest w tym okresie szczególnie luźno związana z białkową stromą i ulega łatwo odmieszaniu pod wpływem uszkodzenia mechanicznego lub kontaktu z wodą. Podobne zjawiska obserwował B e a u v e r i e (1926) u dojrzałych chromoplastów w płatkach *Ranunculus* (lipofaneroza) oraz W e i e r (1942) u chromoplastów *Daucus*, jednakże w tym ostatnim przypadku tylko pod wpływem alkoholu. U *Sorbus* odmieszanie fazy lipoidowej w okresie przemiany chloroplastów w chromoplasty objawia się wypływem barwnych kropel tłuszczowych na zewnątrz stromy, u *Sambucus* zlewanie się w większe krople wewnątrz stromy, u *Solanum* wakuolizacją zbliżoną do tej, jaką opisuje K ü s t e r (1951) dla chloroplastów *Mnium*. Wykształcone chromoplasty posiadają znacznie bardziej trwałą strukturę.

Czynnik kształtotwórczy — stroma — podlega przy metamorfozie mniejszym lub większym modyfikacjom. Jej objętość może zostać zredukowana *(Sambucus, Solanum)* lub też pozostać bez zmiany przy zachowaniu dawnego kształtu *(Physalis)* lub zupełnej jego zmianie *(Sorbus)*. Nie obserwowano zwiększenia objętości chromoplastów w stosunku do wykształconych chloroplastów.

W chloroplastach barwiki zlokalizowane są głównie (lub wyłącznie?) w granach. Barwiki karotenoidowe o ile nie przybierają form kryształów, występują również w granach (S c h i m p e r 1883). Grana te, szczególnie dobrze widoczne u *Physalis*, gdzie stroma wydaje się być zupełnie bezbarwna. Natomiast u *Solanum* w niektórych wykształconych chromoplastach pomarańczowe barwiki są jakby rozproszone w stromie. Zaobserwowane pojawianie się pomarańczowych gran najpierw na brzegach plastydu u *Physalis* zgodne jest z danymi S h i m p e r a (1885) dla *Aloe, Oncidium* i in.

W wykształconych chromoplastach *Sorbus* nie stwierdzono ani gran, których istnienie stwierdził Roberts i Southwick (1948) ani igiełkowatych kryształów (Schimper 1885) mimo użycia bardzo dobrej optyki mikroskopowej. Struktura wrzecion jest zupełnie homogeniczna, jedynie czasem, zwłaszcza w młodszych stadiach występuje ledwo dostrzegalna struktura włókienkowa.

Ogólnie przyjmuje się, że wrzecionowaty kształt chromoplastów u *Sorbus* powstaje dzięki krystalizacji karotenów (Meyer 1883, Schimper 1885, Schürhoff 1926, patrz także Straus 1953). Obserwacje odmieszania, gdzie barwik wypływa w formie kropel na zewnątrz a prawie bezbarwna stroma zachowuje swój kształt wrzecionowaty (Ryc. 30) wskazuje na to, że raczej stromie należy przypisać rolę kształtotwórczą.

Występowanie karotenoidów w formie dwu rodzajów krzyształów obserwował u *Solanum* Millardet (cyt. wg Schimpera 1883) u marchwi Schimper (1885) i Weier (1942). Różnica w zabarwieniu nie jest związana, jak stwierdził Weier (1942) z rozcieńczeniem barwika. Należy raczej przypuszczać, że oba typy kryształów są różnymi rodzajami karotenoidów. W formie podobnej do czerwonych kryształów krystalizuje likopen, a do żółto-pomarańczowych karoten (Karrer i Jucker 1948). Nagłe pojawienie się w ostatniej fazie dojrzewania kryształów czerwonych w przeciwieństwie do powoli narastających pomarańczowych byłoby wtedy zgodne z wynikami Kuhna i Grundmanna (1932 cyt. wg Karrera), którzy stwierdzili, że w dojrzewających owocach pomidora równomiernie przybywa karotenu, natomiast ilość likopenu wzrasta wybitnie dopiero w ostatniej fazie.

W związku z badaniami nad chromoplastami marchwi rozważa Weier (1942) zagadnienie czy twory krystaliczne można nazwać chromoplastami i stwierdza, że nie pozwalają na to, obok różnic morfologicznych także i własności chemiczne (zachowanie się wobec szeregu odczynników). Opisane obserwacje dodają do takiego stanowiska jeszcze jeden argument — genezę kryształów. Kryształy te rosną w plastydach lub obok nich, mogą być więc traktowane najwyżej jako produkty chromoplastów.

Kierownikowi Zakładu Fizjologii Roślin U. J. Panu Prof. Dr F. Górskiemu składa autor podziękowanie za udzielone rady i wskazówki.

Z Zakładu Fizjologii Roślin Uniwersytetu Jagiellońskiego
Kraków

SUMMARY

Changes in quantity and morphological changes of plastids in ripening fruit cells of 4 plant species have been examined. In each of the 4 species experimented with chromoplasts differ fundamentally and are very typical. The developement from flower to the fully ripe fruit has been divided into 6 stages (I—VI), easily distinguished by changes in colour, size, and shape. Each of these stages lasts approximately 2 weeks.

The number of plastids is small in ovary cells, but it increases to reach the maximum in stage III. From this point on it remains — within limits of error — unchanged (Fig. 1). Thus statistically there are no divisions and degeneration in the change of chloroplasts into chromoplasts. The absolute number of plastids changes greatly in the different plant species.

Morphological changes of plastids in stages I—III are similar in all examined species. Plastids in ovary cells are small and colourless or very pale green and have no visible inner structure. Gradually the plastids increase in size (fig. 2) and inside them appear green grana, pale and dimly visible at first, they later become distinct. In stage III chloroplasts reach their fullest developement. From this stage on chloroplasts begin to change into chromoplasts and the course of this process is different in different species.

Sambucus. Large chloroplasts aprox. 5 μ in diameter, diminish in size. Their shape round at first becomes ellipsoid or irregular. The granular structure, at first very distinctly visible becomes dim, and the grana from dark green change into yellow green. In this stage injuries easily cause demixing of the lipoid phase which flows out from the plastid. Near the plastid appear then yellow, highly refractive, round drops. In the further stages of this process the plastid shrinks still more and usually becomes almost ball shaped and yellow with a light orange tint. The pigment is placed in round dimly visible grana aprox. 0,5 μ in diameter. Stroma is highly reduced.

Physalis. During their transformation into chromoplasts the plastids do not change their shape and size. The structure, distinct at first becomes somewhat dim. The plastid becomes pale green. At the same time on the borders of plastids several grains appear, they are highly refractive, intensively orange and approx. 0,5—1,5 μ in diameter. The stroma becomes gradually colorless and the number of orange grains increases. They are at first agglomerated in several points on the borders of plastids, later the agglemerations join to form semicircles or rings. The middle of a plastid is the last to be occupied by the orange granules. In ripe chromoplast the pigment is distinctly localized within small grains dispersed evenly throughout the plastid.

Sorbus. Disk shaped chloroplasts with small distinct grana become somewhat ellipsoid. The granular structure becomes less visible. The colour changes from green to yellow green. Some of the grana seem to be larger and of a darker hue than others. Later plastids become spindle shaped and their structure is indistinct. The stroma seems to be evenly coloured, some grana are still visible in it. At this stage injuries easily cause demixing of the lipoid phase which flows out forming by the spindle shaped plastids round, yellow drops. As the fruit ripen the spindle shaped chromoplasts elongate, become sharper at the ends and intensively orange. Their structure is homogeneous or indistictly fibrous (near the visibility limit of the microscope). When plastids change from disk shaped chloroplasts to spindle shaped chromoplasts their volume either remains the same or changes only very slightly. The volume of ellipsoid chloroplasts calculated from average dimensions ($3{,}2 \times 1{,}2 = 6{,}4\ \mu^3$) is very similar to that of spindle shaped chromoplasts ($14{,}8 \times 1{,}08 = 5{,}3\ \mu^3$).

Solanum. In this species plastids in cells taken from basal parts of the fruit where starch is not accumulated in great quantity have been examinated. Solanum chloroplasts have a very distinct sharply outlined, granular structure which dissolves and becomes pale in the course of the development process. Simultaneously small orange grains appear, they are 0,5—1,5 μ in diameter and their shape is either round or polygonat. At this stage injuries often cause the vacuolisation of plastids. Latter the plastids become smaller, the stroma becomes colourless and besides the orange grains one or two orange cristals appear. So far no pigment is to be seen outside the plastids. As the fruit ripen in the last stage the orange grains appear also in the cytoplasm, they probably originate from plastids which have dissolved. Besides the yellow orange cristals also pink ones appear, they resemble either scales or strips and are fairly large (20 μ in length). Sometimes they are attached to the degenerated plastids but usually they appear separately in the cytoplasm. In ripe fruit plastids are often heaped together and easily can be mistaken for coloured layers of protoplasm.

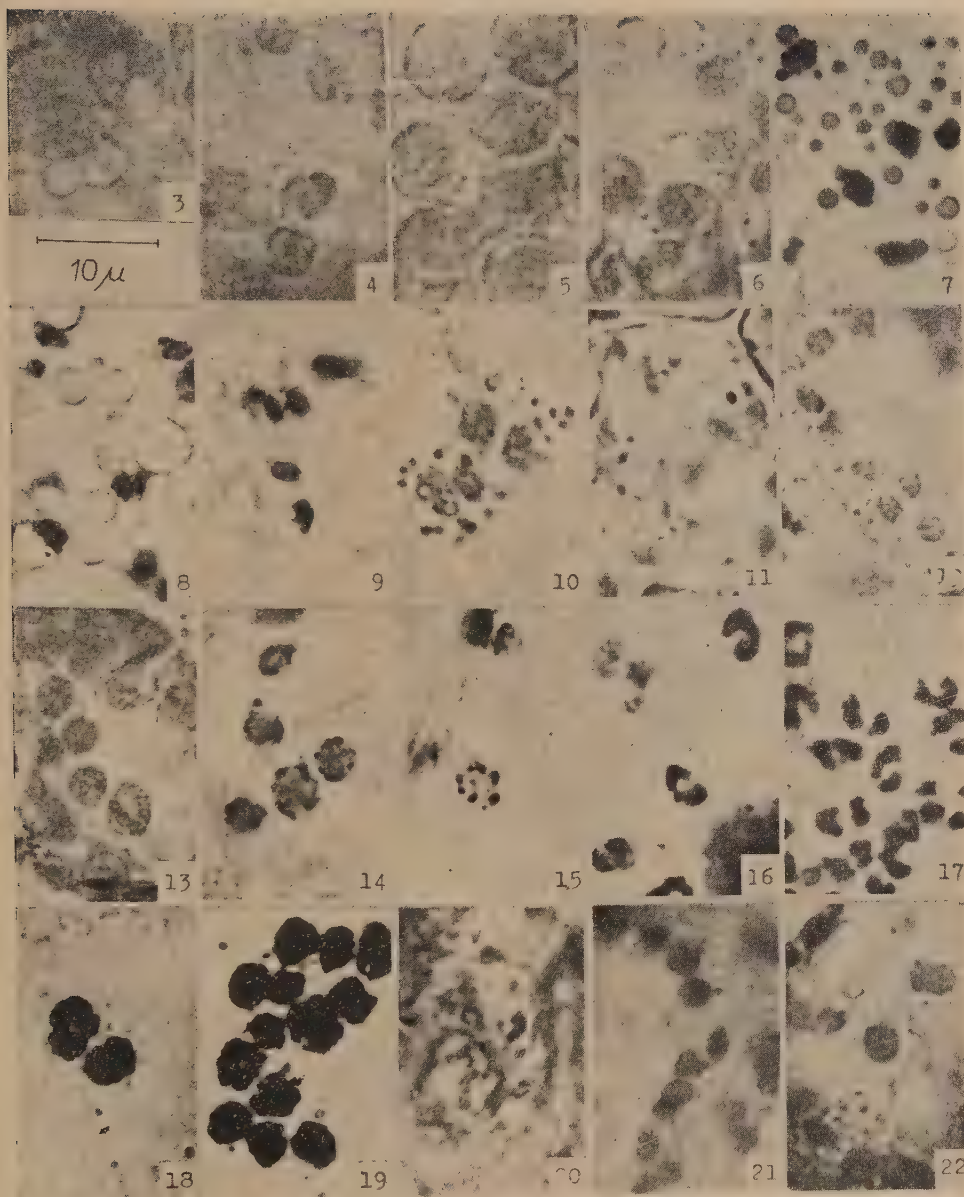
A common feature in the different types of transformations of chloroplasts into chromoplasts it the decrease in the amount or even the disappearence of chlorophyll and the increase in the amount of yellow pigments. During the transformation of pigments the lipoid phase is very loosselly related to the stroma and is easily demixed, which causes either yellow fat drops to flow out from plastids or the vacuolisation of plastids. Even when demixing take place in young Sorbus chromoplasts the stroma remains spindle shaped, which seems to indicate that in this case stroma proteins and not crystalizing pigments are responsiblbe for its shape. During the transformation of plastids the stroma is either great-

ly reduced in volume *(Sambucus, Solanum)* or its volume and the shape remains unchanged *(Physalis)* or its structure is completely changed *(Sorbus)*.

LITERATURA

1. B e a u v e r i e J., 1926. Sur les modes de dégénérescence des chloroplastes particulièrement dans le parasitisme. Copt. Rend. Acad. Sc. Paris *183* 141—143.
2. B e a u v e r i e J., 1937. Etude de cytologie experimentelle. Action de la pression mecanique sur les chromoplastes de Ranunculus. Compt. Rend. Sci. Biol. *124,* 194—196.
3 G o o d w i n T. W., 1952. The Comparative Biochemistry of the Carotenoids. London, Chapman & Hall Ltd.
4. K a r r e r P. und J u c k e r E., 1948. Carotinoide. Birkhäuser. Basel.
5. K l j u c z a r i e w a W. M., 1930. O czwetnych plastidach tomatow. Agrobiołogia 1950. 146—148.
6. K ü s t e r E., 1951. Die Pflanzenzelle. G. Fischer, Jena.
7. M a y e r A., 1883. Über Krystalloide der Trophoplasten und über die Chromoplasten der Angiospermen. Bot. Ztg. *30.* 489.
8. R o b e r t s E. A. and S o u t h w i c k M. D., 1948. Contribution with the electron microscope to studies of the relationship of chromoplasts to carotene bodies and carotene bodies to vitamin A. Plant Physiol 29. 621—633.
9. S c h i m p e r A. F. W., 1883. Über die Entwicklung der Chlorophyllkörner und Farbkörper. Bot. Ztg. *30.* 105.
10. S c h i m p e r A. F. W., 1885. Untersuchungen über die Chlorophyllkörner und die ihnen homologen Gebilde. Jahrb. f. wiss. Bot. *16.* 1—247.
11. S c h u r c h o f f P. N., 1924. Die Plastiden. Borntrager. Berlin.
12 S t r a u s W., 1942. Über Chromatophoren. Reinigung und Analyse der Farbstoffträger aus Mohrruben und Spinatblättern. Helv. Chim. Acta *25.* 179—188.
13. S t r a u s W., 1953. Chromoplasts — development of crystalline forms, structure, state of the pigments. Bot. Rev. *19.* 147—186.
14. W e i e r T. E., 1942. A cytological study of the carotene in the root of Daucus carota under varlous experimental treatments. Am. J. Bot. 29, 35—44.

TABLICA I

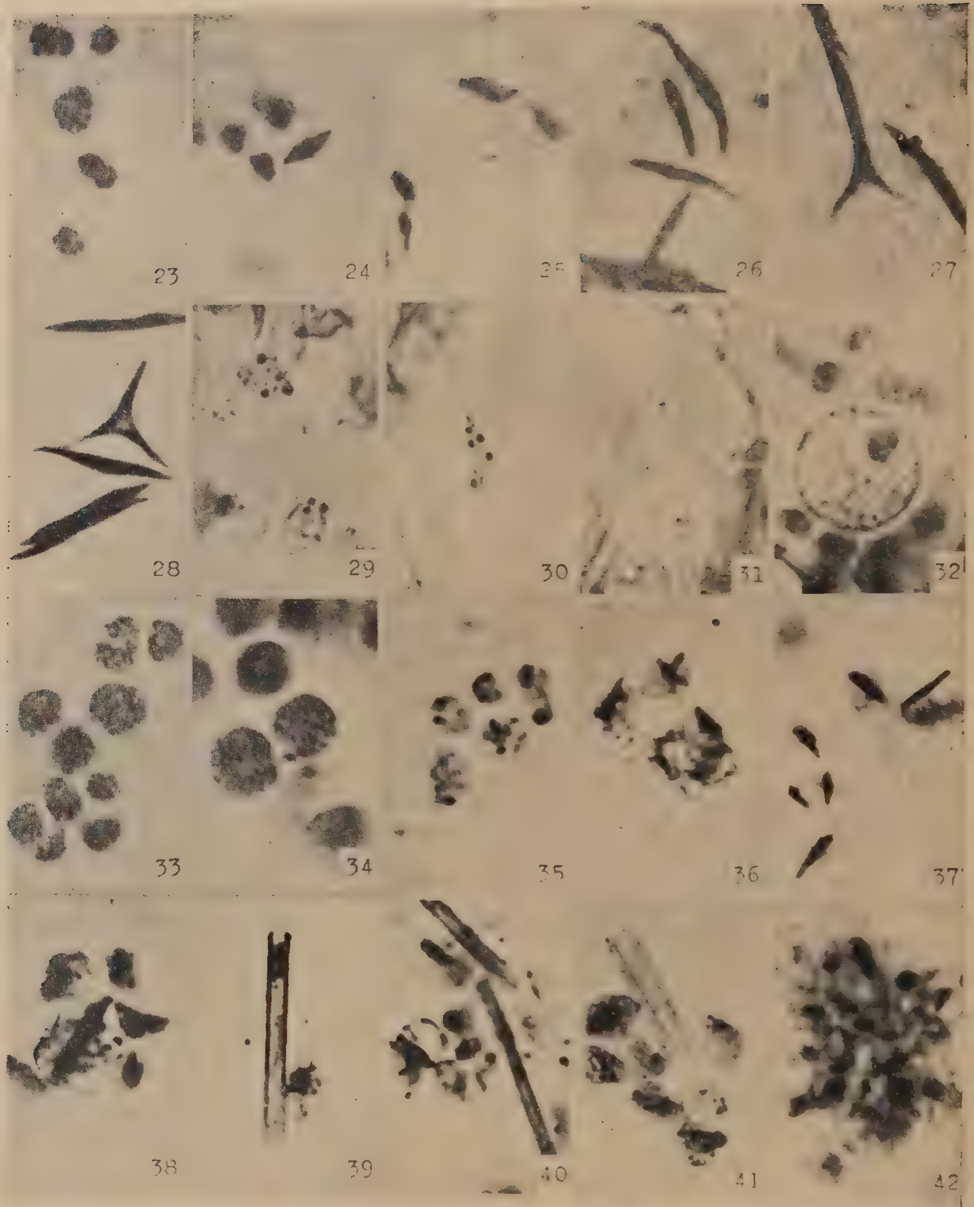


Ryc 3—10. *Sambucus*. 3 — stadium I, 4 — stadium II, 5 — stadium III, 6 — stadium IV, 7 — stadium V, 8, 9 — stadium VI, 10 — odmieszanie fazy lipoidowej w stadium V.

Sambucus. 3 — stage I, 4 — stage II, 5 — stage III, 6 — stage IV, 7 — stage V, 8, 9 — stage VI, 10 — demixing of lipoid phase in stage V.

Ryc. 11—19. *Physalis*. 11 — stadium I, 12 — stadium II, 13 — stadium III, 14, 15 — stadium III, 16, 17 — stadium V, 18, 19 — stadium VI.

Physalis .11 — stage I, 12 — stage II, 13 — stage III, 14, 15 — stage IV, 16, 17 — stage V, 18, 19 — stage VI.



Ryc 20—30. *Sorbus*. 20 — stadium I, 21 — stadium II, 22 — stadium III, 23 — stadium IV, 24, 25 — stadium V, 26, 27, 28 — stadium VI, 29 — odmieszanie w stadium IV, 30 — odmieszanie w stadium V.

Sorbus. 20 — stage I, 21 — stage II, 22 — stage III, 23 — stage IV, 24, 25 — stage V, 26, 27, 28 — stage VI, 29 — demixing of lipoid phase in stage IV, 30 — demixing of lipoid phase in stage V.

Ryc. 31—42. *Solanum*. 31 — stadium I, 32 — stadium II, 33 — stadium III, 34, 35 — stadium IV, 36, 37 — stadium V, 38—42 — stadium VI.

Solanum. 31 — stage I, 32 — stage II, 33 — stage III, 34, 35 — stage IV, 36, 37 — stage V, 38—42 — stage VI.

Badania cyto-embriologiczne nad *Centaurea scabiosa* L.

Cytological and embryological studies in Centaurea scabiosa L.

ROMANA CZAPIK

Z Zakładu Anatomii i Cytologii Roślin U. J.

(Wpłynęło dn. 28.X.53 r.)

Dotychczasowe badania cytologiczne w obrębie rodzaju *Centaurea* ujawniły istnienie kilku liczb podstawowych: x = 8, 9, 10, 11, 12. Np. *C. solstitialis* L. posiada 2n = 16 (cytowane wg. Tischlera 1950), *C. scabiosa* L. 2n = 20 (Poddubnaja-Arnoldi 1931, Roy 1937, Fröst 1948), *C. phrygia* L. 2n = 22 (Poddubnaja-Arnoldi 1931), *C. cyanus* L. 2n = 24 (Poddubnaja-Arnoldi 1931). Dla gatunków pozaeuropejskich *C. macrocephala* Muss., *C. ossica*, *C. ovina* Pall. Poddubnaja-Arnoldi (1931) ustaliła liczbę 2n = 18. W obrębie rodzaju występują także gatunki poliploidalne, których przedstawicielami są *C. Fischeri* 2n = 40 Poddubnaja-Arnoldi 1931), *C. jacea* L. 2n = 44, *C. collina* L. 2n = 60 (cytowane wg Darlingtona i Janaki Ammal 1945).

Pewną różnorodność w obrębie gatunku wykazuje zgodnie z opublikowanymi wynikami badań cytologicznych *Centaurea scabiosa*. Oprócz charakterystycznej dla tego gatunku liczby 2n = 20, ustalonej po raz pierwszy przez Poddubnaja-Arnoldi (1931) w materiale rosyjskim, a później potwierdzonej przez Roy'a (1937) dla Wysp Brytyjskich i Frösta dla Skandynawii, notowano jeszcze inne liczby: Fritsch (1936) podaje 2n = 24 i Dark 2n = 14 (cytowane wg Darlingtona i Janaki Ammal 1945). Nadto Fröst (1948) oprócz typowej liczby 2n = 20 odkrył u kilku okazów skandynawskich pochodzących z wyspy Gotland i Smalandu chromosomy dodatkowe i pierścieniowe występujące w zmiennej ilości.

Wobec istniejących w literaturze cytologicznej rozbieżności, pierwszym zagadnieniem mojej pracy było ustalenie liczby chromosomów dla materiału polskiego *Centaurea scabiosa*. Drugie zagadnienie doty-

czyło szczegółów rozmnażania tego gatunku w związku z częstym występowaniem zjawiska apomiksji u przedstawicieli rodziny *Compositae*. W badaniach moich uwzględniłam obszerniej mejozę w komórkach macierzystych pyłku, budowę woreczka zalążkowego oraz pewne stadia rozwoju zarodka.

MATERIAŁ I TECHNIKA BADAŃ

Materiał użyty do badań pochodził wyłącznie ze stanowisk naturalnych. Najdalej na południe wysunięte było stanowisko w Kamionce koło Limanowej, najdalej na północ Reda na wybrzeżu Bałtyku. Pozostałe obejmowały okolice Krakowa, Tomaszowa Mazowieckiego i Tczewa. Ogółem mitozę zbadałam na roślinach z 12 stanowisk, mejozę z trzech (tabela I).

Stożki wzrostu korzeni utrwalałam płynem Navashina, pączki kwiatowe przed zanurzeniem w płynie Navashina były traktowane przez 1 min. alkoholem octowym. Stożki wzrostu krajałam na grubość 10 μ i barwiłam fioletem gencjanowym metodą Newtona zastępując olejek goździkowy roztworem fenolu w ksylolu (1 : 3).

Natomiast skrawki pączków grubości 10—12 μ barwiłam hematoksyliną żelazistą Heidenhaina, a starsze stadia woreczków zalążkowych hematoksyliną Mejera. Żywą zawartość ziarn pyłku badałam metodą acetokarminową. Rysunki wykonałam przy pomocy aparatu rysunkowego Leitza. Powiększenia podane są przy odnośnych figurach tekstu.



Fig. 1. *Centaurea scabiosa*. Płytki metafazowe stożków wzrostu korzeni: a — Sikornik, b — Ciebłowice (× 2600).

Fig. 1. *Centaurea scabiosa. Metaphases from root tips* (× 2600).

SOMATYCZNA LICZBA CHROMOSOMÓW

Somatyczną liczbę chromosomów u badanych okazów *C. scabiosa* ustaliłam na podstawie płytek metafazowych stożków wzrostu korzonków, otrzymanych z nasion kiełkowanych na płytkach Petri'ego na bibule filtracyjnej. Nasiona pochodziły z 12 stanowisk (tabela I).

Badania potwierdziły liczbę somatyczną 2n = 20, ustaloną poprzednio przez W. Poddubnaja-Arnoldi. Chromosomy w stadium metafazy wykazują pewne zróżnicowanie dotyczące długości i morfologii (Fig. 1). Występuje wśród nich jedna para chromosomów z trabantami. Długość poszczególnych chromosomów wynosi w przybliżeniu od 2—4 μ.

ROZWÓJ ZIARN PYŁKU

Podziały mejotyczne w komórkach macierzystych pyłku zbadałam na roślinach pochodzących z trzech stanowisk: Miechów, Krzeszowice, Bielany koło Krakowa.

TABELA I

Nr stan.	Miejscowość	Stanowisko	Szer. geogr. płn.	Mitozy 2 n	Mejozy n
3	Kamionka k. Limanowej	pastwisko	49°40′	20	—
7	Krzemionki Pdg. Kraków	wapienne skałki	50°03′	20	—
1	Sikornik Kraków	łąka	50°04′	20	—
5	Przegorzały k. Krakowa	zbocze lessowe	50°04′	20	—
8	Bielany k. Krakowa	wapienne skałki	50°04′	20	10
9	Krzeszowice	wapienne skałki	50°10′	20	10
6	Miechów	polna miedza	50°20′	—	10
10	Ciebłowice k. Tom. Maz.	kartoflisko	50°31′	20	—
11	Tomaszów Mazowiecki	wapienne skałki	50°31′	20	—
14	Pelplin	przydroże	53°50′	20	
15	Bielawki k. Tczewa	polna miedza	54°00′	20	—
13	Tczew	nasyp toru kolei	54°00′	20	
16	Reda	droga przy torze kolejowym	54°42′	20	—

a) Ogólna topografia pylnika.

Na przekroju poprzecznym młodego pylnika widać zwykle po cztery komórki macierzyste pyłku, wypełniające szczelnie wnętrze każdej z komór pylnikowych. Od tkanki ścian zewnętrznych pylnika oddzielone są jednowarstwowym tapetum. W miarę wzrostu pylnika pomiędzy zaokrąglającymi się komórkami macierzystymi pyłku występują przestwory międzykomórkowe, a między komórkami tapetum pojawiają się szczeliny. Na obu końcach komór pylnikowych występują stale większe sku-

pienia komórek tapetum. Niektóre z komórek tapetum rozszerzają się buławkowato i wystają ponad sąsiednie do światła komór. Od stadium tetrad zaczyna się stopniowa degeneracja tapetum. W pylnikach, w których na pierwotnych ziarnach pyłku zaczyna wykształcać się egzyna, tapetum jest już wybitnie szczątkowe, poprzerywane długimi szczelinami. Miejscami nie można wyróżnić śladów błon oddzielających sąsiednie komórki.

b) T a p e t u m.

Tapetum u *Centaurea scabiosa* należy do typu ameboidalnego (S c h n a r f 1931) i nie tworzy peryplazmodium. W stadium profazy heterotypowej w komórkach macierzystych pyłku komórki jego są dwujądrowe. Jądra zajmują większą część światła wąskiej komórki. W niektórych komórkach oba jądra przylegają bezpośrednio do siebie lecz nie są zlane. W innych komórkach jądra są przypuszczalnie w podziałach: błony jądrowe są niedostrzegalne a natomiast występuje splątana masa chromosomów ułożonych w jednej lub w dwóch płytkach metafazowych zajmujących całą szerokość komórki. Jak można sądzić z wyglądu tych płytek, liczba chromosomów w nich jest znacznie wyższa od somatycznej liczby 20. Pomiędzy dwoma płytkami stwierdziłam w paru tylko przypadkach istnienie nici wrzeciona. Zjawiska te można obserwować w tapetum w stadiach od wczesnej profazy do stadium tetrad w komórkach macierzystych pyłku. W późniejszych stadiach płytki metafazowe stają się rzadsze, jądra mniejsze w stosunku do komórki. Wewnątrz jądra występuje zmienna ilość (do siedmiu) drobnych, barwiących się jąderek. Komórki tapetum w tym stadium przeważnie są dwujądrowe, jednak spotyka się także komórki z jednym jądrem.

Obserwowane obrazy wskazują na to, że w komórkach tapetum u *C. scabiosa* zachodzi zwiększenie liczb chromosomów w jądrach bądź na drodze endomitozy, polegającej na podziale chromosomów bez podziału jądra i wytworzenia wrzeciona, bądź też na drodze zahamowania rozpoczętych podziałów mitotycznych (W i t k u s 1945, W c i s ł o 1952, M e c h e l k e 1952).

c) M e j o z a.

W różnych kwiatkach jednego koszyczka znaleźć można było niekiedy wszystkie stadia mejozy od profazy do tworzenia tetrad. Natomiast w obrębie jednej komory pylnikowej komórki macierzyste pyłku znajdują się mniej więcej w tym samym stadium podziałowym.

Stadia profazy przebiegają prawidłowo. W pachytenie wyraźne są nici chromosomów i jedno lub niekiedy dwa jąderka. W miarę postępującej spiralizacji nici chromatynowe w stadium diplotenu stają się krót-

sze i w konsekwencji w stadium diakinezy wyróżnić można pary chromosomów. Znajdujemy tu stale pewne charakterystyczne konfiguracje. Trzy duże biwalenty posiadają po dwie chiazmy terminalne i występują w postaci zamkniętych pierścieni. Trzy dalsze mają po jednej chiazmie terminalnej. Dwa najmniejsze z niemal kulistymi drobnymi chromosomami posiadają również po jednej chiazmie terminalnej (Fig. 2).

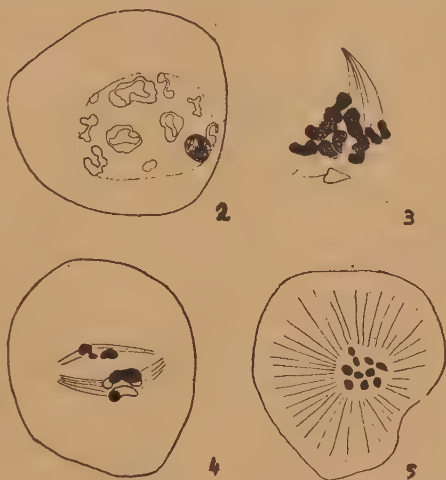


Fig. 2—5. *Centaurea scabiosa.* Podział heterotypowy; 2 — diakineza; 3 — zgięte wrzeciono w I metafazie. Jeden z biwalentów podzielił się wcześniej od innych; 4 — wrzeciono rozdwojone; 5 — telofaza I, jeden z biegunów widziany z góry (2, 4, 5 — × 1300; 3 — × 1730).

Meiosis in P. M. C's of Centaurea scabiosa. 2— Diakinesis; 3 — a bent I Metaphase spindle — precocious separation in one pair; 4 — a split I Metaphase spindle; 5 — one telophase plate (2, 4, 5 — × 1300, 3 — × 1730).

W metafazie I chromosomy zgrupowane są w 10 biwalentów, które różnią się między sobą wielkością. Zauważyć można, że jeden biwalent często dzieli się nieco wcześniej od innych (Fig. 3).

Począwszy od tego stadium dawały się obserwować pewne nieprawidłowości w przebiegu mejozy.

Ciekawe jest występowanie wrzecion zgiętych łukowato (Fig. 3), oraz robiących wrażenie jednobiegunowych. Płytka chromosomowa leży albo w środku komórki, albo zepchnięta jest ku obwodowi. Płytki metafazowe położone acentrycznie były szczególnie częste w pączkach roślin pochodzących ze stanowiska w Krzeszowicach. Jednakże w tym położeniu nie było widać jak przebiegają nici wrzeciona.

Daje się też obserwować jeszcze jeden anormalny obraz metafazy: chromosomy występują zgrupowane w dwa skupienia. Sprawiało to wrażenie wrzeciona rozdwojonego w okolicy płaszczyzny równikowej, o niciach zbiegających się koło biegunów (Fig. 4).

W stadium anafazy I obok wrzecion normalnych nadal częste były zgięte wrzeciona, ale najcharakterystyczniejszym szczegółem było niezsynchronizowane rozchodzenie się chromosomów na bieguny (Fig. 6—8). W skrajnych przypadkach spotykałam figury, w których jeden z chromosomów osiągnął już biegun, podczas gdy inne znajdowały się jeszcze w położeniu bliskim płaszczyzny równikowej (Fig. 7). W innych przypad-

kach jeden lub dwa opóźniały się pozostając pomiędzy dwiema grupami chromosomów leżących już w pobliżu biegunów (Fig. 8). Nierównomierne rozchodzenie się chromosomów w anafazie I wydaje się być w opisywanych przypadkach regułą; natomiast normalne anafazy były niezmiernie rzadkie.

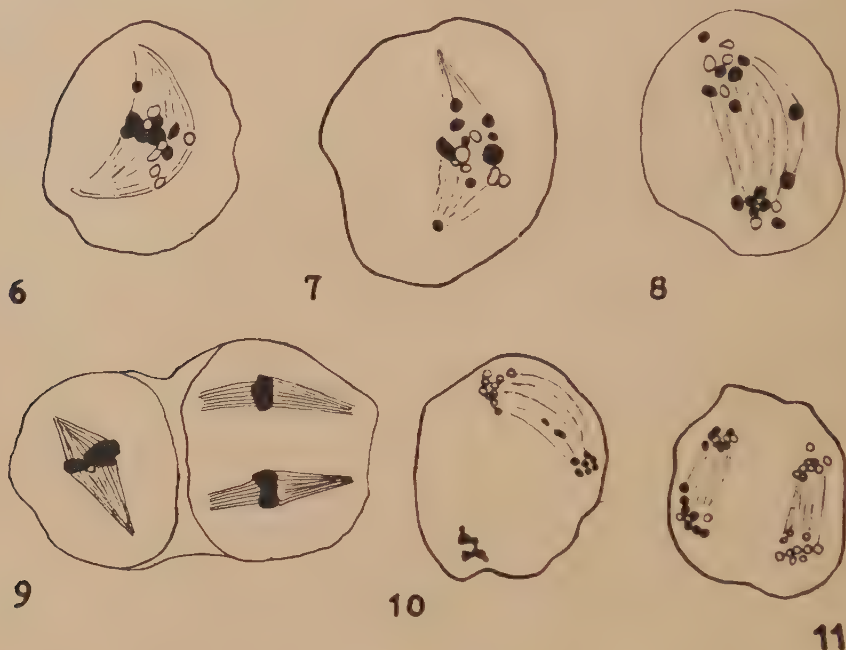


Fig. 6—11. *Centaurea scabiosa.* 6—8 niezsynchronizowane rozchodzenie się chromosomów na bieguny we wczesnej i późniejszej anafazie I oraz w ana-telofazie. 9—11 podział homeotypowy: 9 — metafaza II wrzeciono syndiploidalne; 10—11 telofaza II: × 1200;

Centaurea scabiosa. 6—8 irregular separation of the chromosomes in early and later I Anaphase and Ana-telophase. 9 — II Metaphase with a syndiploid spindle. 10, 11 — II Telophase. × 1200;

Mimo tych nieregularności nie stwierdziłam w telofazie I liczb chromosomów odchylających się od typowej liczby n = 10 (Fig. 5). Pozwala to przypuszczać, że w pewnych przypadkach opóźnione chromosomy osiągnęły bieguny zanim zostały wytworzone błony jądrowe w interkinezie. Zgodnie z tym interkineza ma na ogół wygląd normalny, bez chromosomów pozostawionych w plaźmie lub na terenie wrzeciona.

W metafazie II wrzeciona układały się prostopadle lub równolegle do siebie. Można było znaleźć niekiedy komórki z jednym tylko szerokim wrzecionem (prawdopodobnie syndiploidalnym). Można było zidentyfi-

kować je po wielkości płytki chromosomowej, która była szersza w przekroju profilowym niż pojedyncza płytka w komórkach zawierających po dwa wrzeciona. Stadium to dało się zidentyfikować jako II metafaza, gdyż w dwu przypadkach takie komórki z jednym szerokim wrzecionem przylegały do komórek z dwoma wrzecionami, a więc znajdującymi się bezsprzecznie w stadium II metafazy. Wobec obserwowanego synchronizmu podziałów w obrębie jednej komory pylnikowej obraz taki potwierdzałby postawione przypuszczenie (Fig. 9).

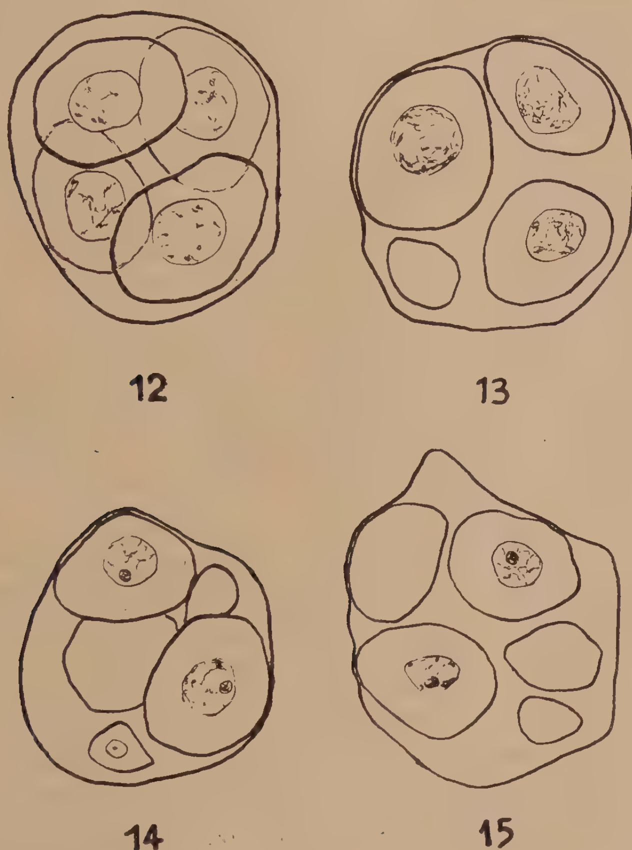


Fig. 12—15. *Centaurea scabiosa*. Jedna normalna i trzy nienormalne tetrady (× 1200).

One normal and three abnormal tetrads (× 1200).

W anafazie II w większości komórek nici wrzecion biegły prawidłowo, lecz zdarzały się też, chociaż rzadko, wrzeciona zgięte. Obserwowałam i w tym stadium nieregularne rozchodzenie się chromosomów polegające na opóźnionym ruchu niektórych chromosomów na bieguny (Fig. 10).

W telofazie II komórki macierzyste pyłku posiadały zazwyczaj po cztery jądra, niekiedy jednak trzy lub rzadziej pięć; te nienormalne tetrady przypuszczalnie powstały w konsekwencji zakłóceń w mejozie.

Zgodnie z tym w tetradach obserwowałam zmienną ilość pierwotnych ziarn pyłku. Najczęściej były po trzy lub cztery komórki w tetradzie, ale występowało także niekiedy pięć komórek. Niektóre z jąder były wyraźnie mniejsze nawet w przypadku gdy powstawały tylko cztery. W tetradach o pięciu komórkach zamiast czterech, zaznaczały się znaczne różnice wielkości poszczególnych komórek. Zwykle dwie były większe, mniej więcej równej wielkości, a trzy pozostałe mniejsze lub też trzy większe a dwie mniejsze. Spotykałam też tetrady z trzema komórkami równej wielkości, a czwartą małą (Fig. 13—15). Takie drobne komórki dają zapewne początek zdegenerowanym ziarnom pyłku.

d) Badanie wykształconego pyłku.

Wobec zaobserwowanych nieregularności podziałów mejotycznych należało oczekiwać występowania pewnego procentu zdegenerowanych ziarn pyłku w rozwiniętych kwiatach. Zbadanie pyłku okazów zielnikowych pozwoliło stwierdzić rzucającą się w oczy różnicę wielkości ziarn pyłku. Po zadaniu acetokarminem stwierdziłam, że wszystkie ziarna drobniejsze nie barwiły się, miały zatem zdegenerowaną zawartość. Dwa wyraźnie karłowate ziarna martwego pyłku, znalezione u rośliny pochodzącej ze stanowiska w Bielanach, miały wymiary: $17.85 \times 17.85\ \mu$ i $25{,}99 \times 17{,}85\ \mu$. Wśród większych ziarn występowały również ziarna bez treści żywej. Ziarn olbrzymich nie spotkałam, pomimo że należałoby ich oczekiwać wobec znalezienia w mejozie wrzecion syndiploidalnych, zresztą bardzo rzadkich. (Tabela II). Procent pyłku zdegenerowanego okazał się wysoki: od około 65—30%.

Że nie u wszystkich okazów *C. scabiosa* mogą występować tak liczne zdegenerowane ziarna pyłku świadczy fakt, że badając w materiale z ubiegłego roku pyłek pochodzący z dwu roślin z okolic między Pławnem a Gidlami, stwierdziłam u jednej z nich pyłek zupełnie normalny z żywą zawartością; u drugiej natomiast rośliny pyłek martwy występował w znacznym procencie.

WORECZEK ZALĄŻKOWY

Zalążek u *C. scabiosa* jest odwrócony (anatropowy). Nucellus jednowarstwowy, bardzo cienki, krótkotrwały, ginie w okresie podziału redukcyjnego.

Integument pojedynczy w stadium rozwiniętego woreczka zalążkowego zróżnicowany jest histologicznie na trzy warstwy odróżniające się

TABELA II
Średnica ziarn pyłku w µ mierzonych w acetokarminie i glicerynie
(sześć próbek pyłku)

Stanowisko		28 µ – 30 µ	30 µ – 32 µ	32 µ – 34 µ	34 µ – 36 µ	36 µ – 38 µ	38 µ – 40 µ	40 µ – 42 µ	42 µ – 44 µ	44 µ – 46 µ	Razem
Krzemionki Podgórskie	ziarna norm.	—	—	—	33	—	52	3	38	1	127
	ziarna zdeg.	—	12	2	36	3	9	—	—	—	62
Przegorzały	ziarna norm.	—	—	—	17	1	19	2	8	5	52
	ziarna zdeg.	6	11	1	38	3	7	—	—	—	66
Bielany	ziarna norm.	—	3	—	17	6	35	3	29	6	99
	ziarna zdeg.	—	10	2	32	—	22	1	—	—	67
Krzeszowice	ziarna norm.	—	2	—	18	—	22	2	27	5	76
	ziarna zdeg.	—	15	3	20	4	6	1	2	—	51
Ciebłowice	ziarna norm.	4	16	2	25	3	13	1	8	1	73
	ziarna zdeg.	4	22	6	19	7	14	—	3	—	75
Reda	ziarna norm.	—	—	—	3	1	10	—	9	3	26
	ziazna zdeg.	—	8	4	20	4	13	—	2	—	51

od siebie kształtem komórek i barwliwością. Warstwa zewnętrzna przyciśnięta do tkanki otaczającej zalążek, tworzy epidermis intergumentu. Na przekroju przedstawia się ona jako pojedyncza warstwa wąskich długich komórek o słabej barwliwości. Pod epidermis leży wielowarstwowa tkanka złożona z drobnych sześciennych komórek nieco silniej barwiących się. Głębsza partia integumentu odznacza się silną barwliwością i stosunkowo dużymi komórkami, z wyjątkiem grupy małych komórek u podstawy antypod. Pozostałe komórki dają stopniowe przejście od komórek mniej więcej sześciennych z jądrem i treścią plazmatyczną, do wydłużonych z degenerującą zawartością wewnątrzną. Całkowita degeneracja komórek zaczyna się od okolic bocznych dojrzałego woreczka zalążkowego. W stadium zarodka z zaznaczającymi się liścieniami wewnętrzną warstwę integumentu stanowi poszarpana tkanka z dużymi wolnymi przestrzeniami, powstałymi na miejscu degenerujących komórek.

Cechą charakterystyczną zalążka u *Compositae* dającą się obserwować i u *C. scabiosa* jest dobrze wykształcone integumentalne tapetum otaczające woreczek zalążkowy. Ośmiojądrowy woreczek zalążkowy oto-

czony jest zupełnie wyraźną pojedynczą warstwą komórek, które odznaczają się równym uszeregowaniem, a poza tym nie różnią się zabarwieniem ani kształtem od sąsiednich komórek integumentu.

Integumentalne tapetum dojrzałego woreczka zalążkowego tworzą komórki wydłużone, wąskie, ściśle do siebie przylegające, ułożone w 1—2 warstwach. Błony ich barwią się równie silnie jak wewnętrzna warstwa integumentu. Między komórkami tymi zaznaczają się dwie przerwy na biegunach woreczka. Na biegunie mikropylarnym w wolną przestrzeń wchodzą szyjki synergid. Przez drugą lukę woreczek zalążkowy komunikuje się z chalazą za pośrednictwem dolnej antypody.

Nie udało mi się prześledzić dalszych stadiów rozwoju i zaniku integumentalnego tapetum. W stadium zarodka o zaznaczających się liścieniach zauważyłam resztki niszczejących, bardzo drobnych komórek integumentalnego tapetum w okolicy mikropylarnej.

Integumentalne tapetum wyznacza kształt woreczka zalążkowego. Młody ośmiojądrowy woreczek zalążkowy ma kształt wrzecionowaty, rozszerzony w środku. Dojrzały woreczek zalążkowy po powstaniu jądra bielmowego ma kształt biszkoptowaty. Zwężenie w części centralnej może być tak znaczne, że na niektórych przekrojach komórki integumentalnego tapetum leżące po przeciwnych stronach woreczka, stykają się ze sobą. Jednak kontakt między mikropylarną a chalazalną częścią woreczka zalążkowego jest zawsze zachowany, chociaż w skrajnych przypadkach ma postać wyraźnego przewężenia.

Wielkość woreczka zalążkowego po połączeniu się jąder biegunowych dochodzi do 1/5 długości zalążka (Fig. 19). W stadium młodego zarodka z zaznaczającymi się liścieniami końcowe odcinki przestrzeni zajętej przez endospermę dochodzą do 2/3 długości zalążka.

Woreczek zalążkowy u *C. scabiosa* jest ośmiojądrowy (Fig. 16). Aparat jajowy składa się z dwu wydłużonych synergid, których końce wnikają w mikropyle, a podstawy rozszerzają się ku wnętrzu woreczka zalążkowego; bezpośrednio pod nimi leży duża komórka jajowa (Fig. 17). Jądra biegunowe znajdują się w środku woreczka (Fig. 16). Łączą się one we wczesnym stadium i wówczas jądro bielmowe umieszcza się pod aparatem jajowym (Fig. 17).

Antypody występują tu stale w typowej liczbie trzech (Fig. 18). Kształt dolnej antypody pozostaje w związku z zadaniem odżywiania woreczka zalążkowego. Jest ona większa od pozostałych, często dwujądrowa. Umieszczona jest w przerwie między komórkami integumentalnego tapetum, komunikując się swą dolną częścią z luźną tkanką integumentu. Komórki, z którymi łączy się bezpośrednio są drobne, czworokątne, wyraźnie odcinające się od pozostałych długich komórek wewnętrznej partii integumentu. Całość sprawia wrażenie antypodalnego

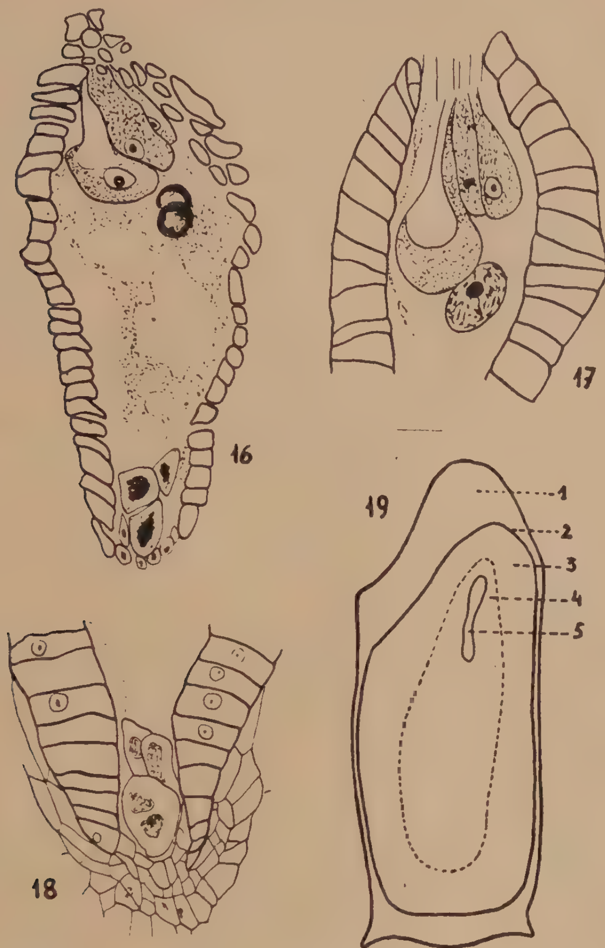


Fig. 16—19. *Centaurea scabiosa*. 16 — ośmiojądrowy woreczek zalążkowy; 17 — aparat jajowy; 18 — starsze stadium antypod, dolna antypoda dwujądrowa. 19 — schemat zalążka: 1. ściana zalążni, 2. epidermis integumentu, 4. wewnętrzn partia integumentu, 3. zewnętrzna partia integumentu, 5. dojrzały woreczek zalążkowy (16, 17, 18 — × 360; 19 — ok. 20 ×).

Centaurea scabiosa. 16 — eight-nucleate embryosac; 17 — egg-apparatus; 18 — antipodals (× c. 360). 19 — outlines of the ovule in the ovarium (1), integumental epidermis (2), external layers (3) and internal layers (4) of the integumental tissues, the mature embryosac (5) (× c. 20).

haustorium. W jednym z woreczków zalążkowych nie mogłam wyróżnić zarysów ścian drobnych komórek chalazalnych. W jednolitej masie cytoplazmy widać było liczne jądra. Otaczające je wydłużone komórki integumentu nie wykazywały degeneracji (Fig. 23). Antypody rozwijają się jednocześnie z innymi elementami woreczka zalążkowego. Bezpośrednio po zlaniu się jąder biegunowych są już dobrze wykształcone

z dużymi jądrami. Antypody trwają bardzo długo. Obserwowałam je jeszcze w obecności zarodka o wykształconych już liścieniach, gdy utraciły bezpośredni kontakt z degenerującymi komórkami integumentu



Fig. 20—23. *Centaurea scabiosa*. 20 abc — trzy kolejne przekroje woreczka o zwiększonej do ok. 16 liczbie jąder; 21 — niespolaryzowane jądra w woreczku zalążkowym; 22 — zdegenerowany gametofit żeński; 23 — antypodalne haustorium ze zniszczonymi błonami komórek chalazalnych. Trzecia antypoda na następnym przekroju (20, 21 22, — ok. 100 ×; 23 — ok. 360 ×).

Centaurea scabiosa. 20 a, b, c, Three sections through an abnormal embryosac with c. 16 nuclei; 21 — abnormal embryosac (failure of polarisation); 22 — abortion of the female gametophyte. 23 — antipodal haustorium and chalazal cells with destroyed cell-walls (20, 21, 22 c. 100 ×; 23 — c. 360 ×).

i kiedy zadanie dostarczania pokarmu dla zarodka przejęła endosperma. W tym przypadku dolna antypoda była także dwujądrowa.

W większości zalążków woreczki zalążkowe były normalne. Jednak w rzadkich przypadkach w badanym materiale dały się obserwować anormalne woreczki zalążkowe.

W dwu przypadkach były to woreczki, w których gametofit uległ degeneracji. Szersze niż normalne integumentalne tapetum otaczało światło woreczka zacieśnione do wąskiej szczeliny (Fig. 22).

W innym woreczku zalążkowym obserwowałam w stadium czterojądrowym brak polaryzacji typowej dla tego stadium. Cztery jądra skupione razem, leżały w środku woreczka zalążkowego. W sąsiednich zalążkach jądra zgrupowane już były na obu biegunach. W nienormalnym tym zalążku integumentalne tapetum było w większej części zniszczone. Brzegi woreczka zalążkowego otaczały komórki poszarpane ze słabo zaznaczającymi się błonami komórkowymi (Fig. 21).

W tym samym koszyczku znalazłam drugi anormalny woreczek zalążkowy, o większej liczbie jąder, niż w typowych woreczkach. Rozpuścił on i zniszczył 1/4 komórek integumentalnego tapetum oraz partię komórek wewnętrznej warstwy integumentu, dochodząc do następnej jego części. W tym miejscu szerokość woreczka równała się szerokości dwu normalnych woreczków zalążkowych. W okolicy mikropylarnej oraz po stronie gdzie woreczek nie rozszerzał się, integumentalne tapetum rozwinięte było normalnie jak w tym stadium rozwoju zalążka. Woreczek ten prawdopodobnie był w stadium odpowiadającym woreczkowi ośmiojądrowemu przed połączeniem się jąder biegunowych. Zidentyfikowałam w nim około 16 odrębnych jąder względnie komórek. Trzy komórki odpowiadające aparatowi jajowemu miały wygląd degenerujących. Leżały pod mikropylem jedna pod drugą, a plazma ich zabarwiła się intensywnie na ciemny kolor. Trzy inne jądra leżały w szeregu obok siebie na biegunie mikropylarnym uchyłka przylegającego do zewnętrznej partii integumentu. Dwa względnie trzy jądra zajmowały położenie centralne; pozostałe umieszczone były pojedynczo pod ścianami woreczka, jedno z nich na biegunie chalazalnym (Fig. 20 a, b, c).

Rozwój endospermy mogłam obserwować w woreczkach zalążkowych, w których zarodek zaczynał wykształcać liścienie. Endosperma jest typu nuklearnego. Jej wolne jądra otaczają zarodek, występują w uchyłkach woreczka i ciągną się pasmami przez środek jego światła. W uchyłkach i w sąsiedztwie zarodka obserwować można wcześniejsze stadia mitozy — płytki metafazowe i telofazowe, natomiast w kierunku ścian woreczka znajdujemy starsze stadia podziałowe; występują tu partie jąder z widocznymi między nimi fragmoplastami a następnie obłonione już komórki (Fig. 25).

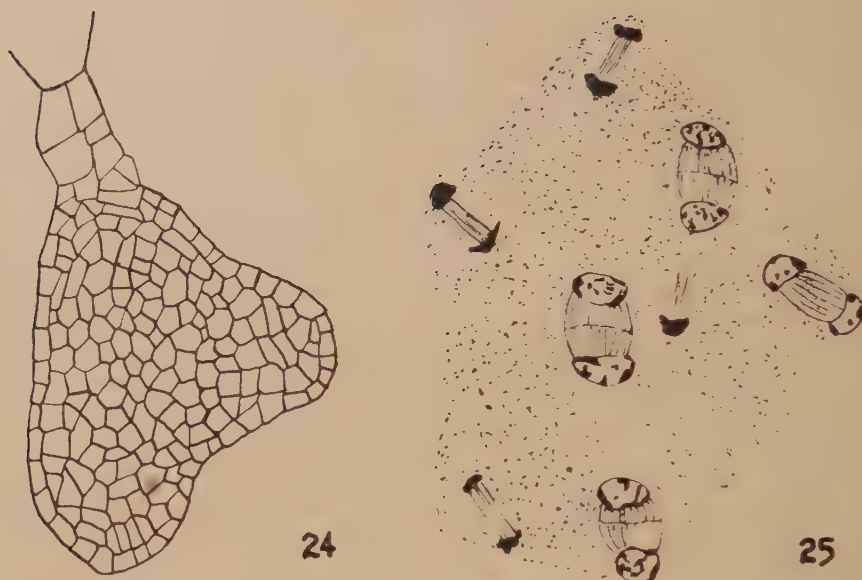


Fig. 24—25. *Centaurea scabiosa*. 24 — starszy zarodek (× 270); 25 — podziały mitotyczne w endospermie (× 610).

Centaurea scabiosa. 24 — an older embryo (× 270); 25 — mitotic divisions in the endosperm (× 610).

Komórki endospermy występują na obwodzie woreczka, oraz miejscami tworzą małe skupienia w jego wnętrzu. Warstwy tych komórek wykreślają granice woreczków zalążkowych, pofałdowanych licznymi uchyłkami. Większa część światła woreczków pozostawała jednak w badanych przypadkach jeszcze niewypełniona. W luce między komórkami granicznymi endospermy, daleko od zarodka znajdują się trzy drobne, niszczejące antypody. Mimo dość licznych płytek metafazowych w endospermie, nie udało mi się sprawdzić liczby chromosomów, ponieważ były zbyt stłoczone.

Cztery zbadane starsze zarodki wykształcone były całkowicie normalnie. Komórki ich przechodziły różne stadia podziałowe. Wieszadełka były dobrze wykształcone. Dowodzi to, że zarodki te rozwinęły się z komórek jajowych (Fig. 24).

Próby kiełkowania nasion wykazały ich wielką żywotność. Zdrowe nieuszkodzone przez pasożyty nasiona kiełkowały szybko na płytkach Petri'ego w 75% (przeciętnie 3—8 dni).

DYSKUSJA

Zbadanie liczby chromosomów w polskim materiale *Centaurea scabiosa* było interesujące ze względu na notowane w literaturze cytologicznej rozbieżności.

Liczbę 2n = 20 ustaliła po raz pierwszy Poddubnaja-Arnoldi (1931), a następnie została ona potwierdzona przez Roy'a (1937) i Frösta (1948). Ta sama liczba występuje również w badanym przez mnie materiale polskim.

Natomiast Dark (niepubl.) podał 2n = 14, a Fritsch (1935) 2n = 24 (cytowane wg. Darlingtona i Janaki Ammal). Nadto Fröst znalazł wśród okazów skandynawskich rośliny z dodatkowymi chromosomami B, widocznymi w postaci drobnych kulistych ciałek. Oprócz nich stwierdził też obecność chromosomów pierścieniowych. Chromosomy dodatkowe i pierścieniowe występowały w zmiennej ilości u różnych osobników, liczba ich ulegała wahaniom nawet w obrębie tkanek jednej rośliny. W materiale rosyjskim Poddubnaja-Arnoldi zaobserwowała raz jeden płytkę z czterema drobnymi fragmentami, które zinterpretowała jako pochodzące z fragmentacji chromosomu. Pozostałe 19 chromosomów, jak również płytki w sąsiednich komórkach były normalne. Te fakty nasuwają przypuszczenie, że liczba 2n = 24 znaleziona przez Fritscha może przedstawiać normalny kompleks z czterema dodatkowymi chromosomami. Natomiast notowana przez Darka liczba 14 pozostaje niewyjaśniona. Interpretacja jest tu szczególnie trudna z tego względu, że w obrębie rodzaju *Centaurea* występują, jak wzmiankowałam poprzednio, różne liczby podstawowe. *C. scabiosa* należy do grupy gatunków z liczbą podstawową x = 10. Tę samą liczbę podstawową posiada gatunek środkowo-europejski *C. calcitrapa* (Vignoli 1945, Heise i Whitaker 1948 — cyt. wg. Tischlera 1950) oraz zbadany przeze mnie ostatnio gatunek *C. rhenana* Boreau (*C. maculosa* Lam. subsp. *Rhenana* (Boreau) Gugler) (niepubl.).

Wszystkie zbadane przeze mnie okazy *C. scabiosa* z materiału polskiego były ściśle diploidalne (2n = 20), bez chromosomów dodatkowych czy pierścieniowych.

Pomimo tej całkowicie prawidłowej liczby chromosomów w merystemach korzonków, u badanych przeze mnie okazów dawały się obserwować pewne zakłócenia w mejozach w komórkach macierzystych pyłku i w konsekwencji występował pewien procent zdegenerowanego pyłku. Zjawiska te nie były obserwowane przez Poddubnaja-Arnoldi (1931), która opisała całkowicie prawidłowy przebieg obu podziałów mejotycznych.

Zakłócenia występowały u wszystkich zbadanych przeze mnie roślin pochodzących z trzech różnych stanowisk. Nierównomierne rozchodzenie się chromosomów w anafazie I i II, zgięte i rozdwojone wrzeciona w I metafazie, wrzeciona syndiploidalne w II metafazie prowadziły do zwiększenia ilości komórek w stadium tetrad. Stwierdzenie 30—65% zdegenerowanego pyłku w kwiatach u sześciu innych zbadanych przeze

mnie cytologicznie roślin, z różnych odległych stanowisk (Tab. I) pozwala przypuszczać, że obserwowane zakłócenia są stosunkowo częste u przedstawicieli badanego gatunku.

Zakłócenia prowadzące do produkcji martwego pyłku były wielokrotnie opisywane w literaturze cytologicznej. Najczęściej występują one u mieszańców, mogą też być indukowane u roślin nie będących mieszańcami działaniem warunków zewnętrznych, nagłymi zmianami temperatury, promieniami Roentgena oraz bodźcami chemicznymi.

Zgięte wrzeciona w I metafazie powstają przypuszczalnie wówczas, gdy nici ich są za długie w stosunku do średnicy komórki. Opisuje je Sharp (1934) w podręczniku cytologii. W Polsce zgięte wrzeciona zaobserwowała Prywer (1931) jako jedną z anomalii mejozy u hodowanego buraka cukrowego. Autorka przypuszcza, że przyczyną obserwowanych zakłóceń były skoki temperatury i cytuje wyniki szeregu badaczy, którym udało się wywołać w ten sposób zakłócenia podziałów mejotycznych w komórkach macierzystych pyłku.

Wrzeciona syndiploidalne, których konsekwencją jest powstanie olbrzymich (diploidalnych) ziarn pyłku opisał Karpechenko (1927) dla mieszańca *Raphanus sativus* × *Brassica oleracea* oraz Skalińska (1938) u aneuploidalnej *Aquilegia* pochodzenia mieszańcowego.

Nieprawidłowe rozchodzenie się chromosomów spotykane jest często w komórkach roślin o aneuploidalnej liczbie chromosomów lub posiadających fragmenty chromosomów. Zjawiska takie występowały u aneuploidalnej *Aquilegia* z jednym lub z dwoma dodatkowymi chromosomami (Skalińska 1938). Dodatkowe chromosomy ulegały tu niekiedy eliminacji tworząc mikrocyty. Jako skutek aneuploidalności podaje również Hagerup (1947) tworzenie dodatkowych karłowatych ziarn pyłku przez aneuploidalne typy w obrębie pewnych gatunków storczyka *Epipactis*.

Jednakże zakłócenia w mejozie u *C. scabiosa* nie mogą być wyjaśnione przez żadne z powyżej omówionych przyczyn. Przyczyny tych anomalii pozostają w gruncie rzeczy nieznane.

U niektórych gatunków roślin degeneracja pyłku wiąże się z ich apomiktycznym sposobem rozmnażania. Jak wiadomo w rodzinie *Compositae* zjawisko to występuje stosunkowo często np. w obrębie rodzaju *Hieracium*, *Taraxacum*, *Crepis* (Schnarf 1929, Gustafsson 1947). Nieregularne mejozy w komórkach macierzystych pyłku obserwowane były przez Bergmana (1935) na kilku okazach *Leontodon hispidus*, zjawisko to było związane z występowaniem w zalążkach dodatkowych woreczków aposporycznych. Wobec tego w badaniach moich nad *C. scabiosa* wzięłam również pod uwagę możliwość apomiksji u tego gatunku. Jednakże ogromna większość zbadanych przeze mnie zalążków

w pączkach i rozwiniętych kwiatach posiadała normalnie wykształcone woreczki zalążkowe, bez dodatkowych woreczków aposporycznych. Na ogół zatem wyniki moich badań dotyczące zalążków zgadzały się z opisem podanym przez Poddubnaja-Arnoldi. Anomalie przedstawiały jedynie nieliczne wyjątki.

W dwóch zalążkach zaobserwowałam całkowity brak woreczków zalążkowych. Być może nastąpiła tu degeneracja makrospory, podobnie jak to występuje u pewnych mieszańców (Skalińska 1928). Inną anomalią raz tylko obserwowaną, był brak polaryzacji w stadium czterech jąder. Zjawisko takie stosunkowo często występuje u apomiktycznej rośliny *Ochna serrulata* (Chiarugi i Francini 1930). Opisał je również Bergman (1935) dla niektórych woreczków aposporycznych *Leontodon hispidus*. Natomiast anomalia polegająca na występowaniu woreczków o zwiększonej liczbie jąder (znaleziona raz jeden w moim materiale) nie jest ograniczona wyłącznie do roślin apomiktycznych. Taki twór przedstawia prawdopodobnie podwójny woreczek zalążkowy.

Zbadanie starszych zalążków z rozwijającymi się zarodkami pozwoliło stwierdzić, że były one umieszczone typowo na biegunie mikropylarnym i miały normalnie wykształcone wieszadełko. Dowodzi to, że rozwinęły się one z komórki jajowej, a nie na drodze aposporii.

Dla rozstrzygnięcia, czy typowe ośmiojądrowe woreczki zalążkowe rozwinęły się z normalnych (haploidalnych) makrospor, należałoby zbadać przebieg podziałów mejotycznych w zalążkach. Tych stadiów jednak nie zdołałam znaleźć w moim materiale. Jak wiadomo, zakłócenia w mejozie mogą prowadzić do wytworzenia diploidalnych gametofitów, dzięki ominięciu podziału redukcyjnego. W takich przypadkach diploidalna komórka jajowa zdolna jest do rozwoju partenogenetycznego.

STRESZCZENIE

1. Na podstawie badań cytologicznych nad *Centaurea scabiosa* z 12 naturalnych stanowisk w Polsce, potwierdzona została charakterystyczna dla tego gatunku liczba chromosomów 2n = 20, bez występowania chromosomów dodatkowych lub pierścieniowych.
2. W mejozach komórek macierzystych pyłku zbadanych dokładnie na roślinach z trzech różnych stanowisk, stwierdzone zostały następujące anomalie:

   I. W podziale heterotypowym:
   1) opóźnienia w rozchodzeniu się chromosomów na bieguny w anafazie,
   2) wrzeciona zgięte,
   3) wrzeciona rozdwojone (rzadkie).

II. W podziale homeotypowym:
1) opóźnienia w rozchodzeniu się chromosomów na bieguny,
2) wrzeciona zgięte (rzadsze niż w podziale heterotypowym),
3) wrzeciona syndiploidalne.

Jako skutek tych zaburzeń obserwowano zmienną ilość jąder (3—5) w tworzących się tetradach, różnice w wielkości ziarn pyłku oraz 30—65% martwych ziarn pyłku. Przyczyna tych zakłóceń pozostaje nieznana.

3. Komórki tapetum posiadają jądra poliploidalne, które powstają prawdopodobnie przez endomitozę lub na skutek zahamowania mitoz.
4. Gametofit żeński (woreczek zalążkowy wtórny) na ogół jest zbudowany normalnie, w głównych zarysach podobny do opisanego przez Poddubnaja-Arnoldi.
Wystąpiły trzy przypadki anormalnych woreczków zalążkowych:
a) dwa woreczki zalążkowe ze zdegenerowanym gametofitem,
b) brak polaryzacji w woreczku zalążkowym o czterech jądrach,
c) woreczek zalążkowy o ilości jąder zwiększonej do ok. 16.
5. W późniejszych stadiach rozwoju nasion obserwowane były normalnie wykształcone zarodki, opatrzone wieszadełkiem, pogrążone w endospermie. Obecność wieszadełka świadczy, że zarodek powstał z komórki jajowej a nie na drodze apomiksji.

Praca niniejsza wykonana została w latach 1951/52 w Zakładzie Anatomii i Cytologii Roślin Uniwersytetu Jagiellońskiego.

W tym miejscu składam gorące podziękowanie Kierownikowi Zakładu Pani Prof. dr. M. Skalińskiej za pomoc i cenne wskazówki, oraz za stałe zainteresowanie moją pracą okazywane mi w czasie przeprowadzania badań.

SUMMARY

This paper gives the results of cytological and embryological studies in *Centaurea scabiosa* L. The material has been collected in 12 natural habitats in northern, central and southern parts of the Polish plain.

Studies of root-tip mitoses have confirmed the somatic number 20 established by Poddubnaja-Arnoldi (1931) and found subsequently by a number of authors in plants from other geographic areas. Neither B-chromosomes nor ring-chromosomes described by Fröst (1948) for Scandinavian specimens have been found in the

plants from Poland. In spite of this exactly diploid number, the study of meioses in P. M. C's of plants from three different habitats has revealed frequent irregularities; in the heterotypic division bending or, in rare instances, splitting of the spindle at I. Metaphase were observable (Fig. 3, 4); at I. Anaphase a delayed or irregular separation of the paired chromosomes was frequent. Despite these irregularities, in most cells all chromosomes were finally included into the daughter-nuclei leading to a normal two-nucleate interkinesis. In the II division again bent spindles and an irregular distribution of the chromosomes could be occasionally observed. In rare instances cells with only one broad spindle (probably formed by syndiploidy) were found at II. Metaphase (Fig. 9, 10). Owing to the meiotic disturbances in the tetrad stage 3 to 5 microspores of unequal size were formed, and the mature pollen contained a proportion of abortive pollen grains ranging from 30 to 65%.

It may be inferred from the studies concerning the embryosac of *C. scabiosa* that it represents a normal sexuel species. As alrerady described by P o d d u b n a j a - A r n o l d i (1931) the mature embryosac is of the normal type (Fig. 16). In contrast with some other *Compositae*, e. g. *Hypochoeris uniflora*, it was noted that the antipodals are of long duration; they are stlll persisting after the beginning of the seed development. In more advanced stages the embryos are visible always in the micropylar region of the ovule; their position and the occurrence of suspensors show that they have arisen from the egg-cell (Fig. 24).

Abortive or abnormal embryosacs have been found only in rare instances. One of the ovules contained a presumably double embryosac with about 16 nuclei. Three were grouped in the micropylar region; they manifested signs of degeneration; the remaining nuclei were irregularly dispersed in the notably enlarged cavity of the embryosac (Fig. 20a, b, c.) This embryosac shows a defective differentiation of its components. In one instance an abnormal embryosac in the four-nucleate stage with four nuclei grouped in the centre was found. The developmental abnormality consisted here in the failure of polarisation. (Fig. 21). Similar phenomena occur frequently in the course of development of embryosacs in some apomictic plants, e. g. in *Ochna serrulata* (C h i a r u g i and F r a n c i n i 1930).

The present study has been carried out in the years 1951—52 in the Institute of Plant Anatomy and Cytology of the University of Krakow. I am deeply indebted to Professor M. S k a l i ń s k a, Head of the Institute, for her constant interest in my invcstigations as well as for valuable advice and suggestions during the course of my work.

LITERATURA

Bergman B. 1935. Zytologische Studien über die Fortpflanzung bei den Gattungen *Leontodon* und *Picris*. Sv. Bot. Tidskr. 29. 155—301.

Chiarugi A. i Francini E. 1930. Apomissia in *Ochna serrulata* Walp. Nuovo Giornale Botanico Italiano. N. s. 37. 1—250.

Dahlgren K. V. O. 1924. Studien über die Endospermbildung der Kompositen. Sv. Bot. Tidskr. Bd. 18. H. 2. 178—203.

Darlington C. D. and Janaki Ammal E. K. 1945. Chromosome Atlas of cultivated plants. London.

Fröst S. 1948. B and ring chromosomes in *Centaurea scabiosa*. Hereditas 34. 255-256.

Gustafsson A. 1946-47. Apomixis in higher plants. Part III. Biotype and species formation. Lund. Univ. Arskr. 43.

Hagerup O. 1947. The spontaneous formation of haploid, polyploid, and aneuploid embryos in some orchids. Det. Kgl. Danske Videnskabernes selskab. Biologiske Meddelelser. Bind. 10. 9. 1—22.

Hegi G. Illustriarte Flora von Mittel-Europa. Tom 6. 2. München.

Mechelke F. 1952 Die Entstehung der polyploiden Zellkerne des Antherentapetums bei *Antirrhinum majus* L. Chromosoma. Bd. 5. S. 246—295.

Poddubnaja-Arnoldi W. 1931. Ein Versuch der Anwendung der embryologischen Metode bei der Lösung einiger systematischer Fragen. Bot. Zbl. 48. 141—237.

Prywer Cz. 1931. Badania cytologiczne nad burakiem cukrowym (*Beta vulgaris* L. *v.saccharifera*). Acta Soc. Bot. Pol. Vol. 8. 19—46.

Roy B. 1938. Chromosome numbers is some species and hybrids of *Centaurea* J. Genet. 35. 89—95.

Schnarf K. 1929. Embryologie der Angiospermen. Berlin.

Schnarf K. 1931. Vergleichende Embryologie der Angiospermen. Berlin.

Sharp L. 1934. Introduction to Cytology. New York and London.

Skalińska M. 1928. Études sur la Sterilité partielle des Hybrides du Genre *Aquilegia*. Verh. d. 5 Intern. Kongr. f. Vererbungswiss. Berlin 2. 1343—1372.

Skalińska M. 1938. Cytogenetic Studies in Aneuploid types of *Aquilegia*. Bull. de l'Acad. Pol. des Sc. et des Lettres. Serie B. 33—58.

Szafer Wł., Kulczyński St., Pawłowski B. 1924. Rośliny polskie. Lwów-Warszawa.

Tischler G. 1950. Die Chromosomenzahlen der Gefässpflanzen Mitteleuropas. Hage.

Wcisło H. 1952. Cytological and embryological studies in *Doronicum* L. Bull. Int. Acad. Pol. Sc. Seria B. 1951. 147—166.

Witkus R. E. 1945. Endomitotic tapetal cell division in *Spinacia*. Am. Jour. Bot. 32. 326—330.

Poglądy Linneusza na powstawanie gatunków

Linné and the origin of species.

ADAM PASZEWSKI

Z Zakładu Fizjologii Roślin Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie.

(Wpłynęło dn. 23.X.53 r.)

Zagadnienie gatunku skoncentrowało w chwili obecnej, jak już tylokrotnie w historii, uwagę biologów. Realne istnienie tej jednostki systematycznej, gatunek w darwinizmie, definicja gatunku podana przez Łysenkę, oto problemy szczególnie aktualne.

Zajmując się pojęciem gatunku, ani na chwilę nie można zapomnieć o tym, że pojęcie to jest bardzo stare, że przeszło z metafizyki do biologii.

W dyskusjach biologicznych nie uwzględnia się dostatecznie punktu widzenia historycznego, a rozstrząsanie pojęcia tego, podobnie zresztą jak każdego innego, bez uwzględnienia rozwoju, to jakby uprawianie systematyki bez podbudowy paleontologicznej.

Linneusz jest tym uczonym, który zaczął konsekwentnie i jednoznacznie stosować terminy g a t u n e k i r o d z a j w biologii. Miał on oczywiście poprzedników, ale nie tak konsekwentnych i nie tak utalentowanych.

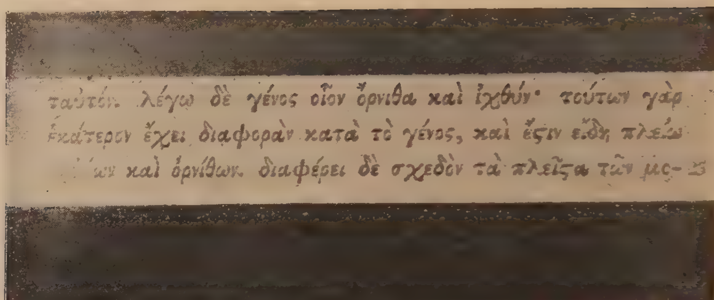
W niniejszej pracy pragnę dowieść, że uczony ten w ciągu swej świetnej kariery naukowej zmienił pogląd na powstawanie tej podstawowej jednostki systematycznej.

Skąd zaczerpnął Linneusz pojęcie gatunku?

Znawca Linneusza K n u t H a g b e r g tak pisze: „Wiemy, że student Karol Linneusz miał w swojej bibliotece egzemplarz *Historia animalium* Arystotelesa, upominek od ojca:. *Historia animalium* miała dla Linneusza znaczenie nieocenione. W książce tej znalazł przede wszystkim to, czego daremnie szukał w dostępnych mu florach: Wielki system przyrodniczy".

Arystoteles zastosował w tym podręczniku po raz pierwszy rodzaj i gatunek w systematyce zwierząt.

Ks. I rozdz. 1 w. 25.



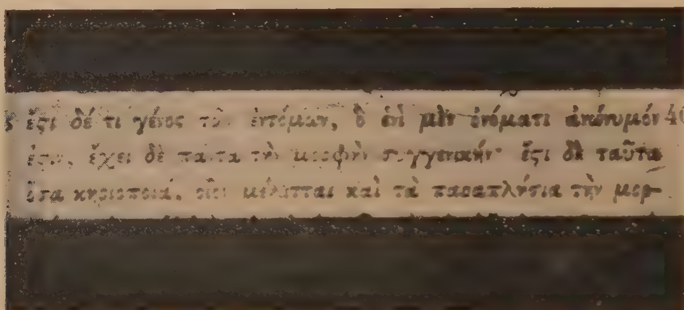
[redacted]

ταὐτόν. λέγω δὲ γένος οἷον ὄρνιθα καὶ ἰχθύν· τούτων γὰρ ἑκάτερον ἔχει διαφορὰν κατὰ τὸ γένος, καὶ ἔστιν εἴδη πλείω ...ων καὶ ὀρνίθων. διαφέρει δὲ σχεδὸν τὰ πλεῖστα τῶν μο-

[redacted]

A mam na myśli rodzaj jak np. ptaka i ryb. Każde z nich posiada różnicę rodzajową i istnieje więcej gatunków ryb i ptaków.

Ks. IX rozdz. 40 w. 1.



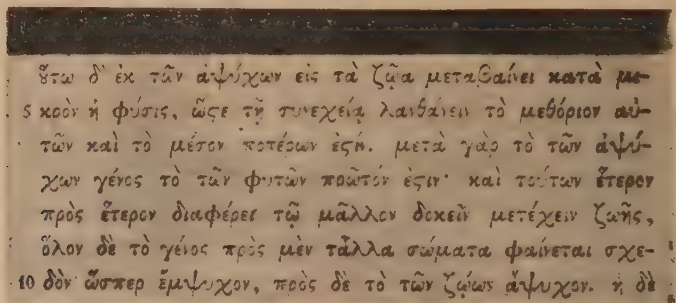
[redacted]

ἔστι δέ τι γένος τῶν ἐντόμων, ὃ ἑνὶ μὲν ὀνόματι ἀνώνυμόν ἐστιν, ἔχει δὲ πάντα τὴν μορφὴν συγγενικήν· ἔστι δὲ ταῦτα ὅσα κηριοποιά, οἷον μέλιτται καὶ τὰ παραπλήσια τὴν μορ-

[redacted]

Istnieje zaś pewien rodzaj owadów, który nie ma wspólnej nazwy, chociaż wszystkie te owady mają tę samą formę rodzajową Należą tutaj wszystkie miodoroby.

Ks. VIII rozdz. 1 w. 24.



[redacted]

οὕτω δ' ἐκ τῶν ἀψύχων εἰς τὰ ζῷα μεταβαίνει κατὰ μικρὸν ἡ φύσις, ὥστε τῇ συνεχείᾳ λανθάνει τὸ μεθόριον αὐτῶν καὶ τὸ μέσον ποτέρων ἐστίν. μετὰ γὰρ τὸ τῶν ἀψύχων γένος τὸ τῶν φυτῶν πρῶτόν ἐστιν· καὶ τούτων ἕτερον πρὸς ἕτερον διαφέρει τῷ μᾶλλον δοκεῖν μετέχειν ζωῆς, ὅλον δὲ τὸ γένος πρὸς μὲν τἆλλα σώματα φαίνεται σχεδὸν ὥσπερ ἔμψυχον, πρὸς δὲ τὸ τῶν ζῴων ἄψυχον. ἡ δὲ

Tak więc przechodzi przyroda powoli od istot nieożywionych do ożywionych. Przy tej ciągłości nie jest wyraźne do jakich istot dana forma należy a granice są zatarte. Bo rodzaj roślin jest najbliższym rodzajowi istot nieożywionych. Rodzaje te różnią się między sobą tym, że jeden z nich sprawia wrażenie, że ma większy udział w życiu. Cały ten rodzaj w porównaniu z innymi ciałami wydaje się posiadać duszę, w porównaniu zaś ze zwierzętami wydaje się bezduszny.

Z powyższych cytatów wynika, że Arystoteles stosował terminy rodzaj i gatunek w sposób różny. Nadawał im znaczenie raz szersze, raz węższe. Arystoteles ujął najszerzej pojęcie genos w trzecim cytacie. Przeciwstawia rodzaj roślin rodzajowi bezdusznych (nieżywych), a rodzaj zwierząt rodzajowi roślin. Istnieje hierarchia form bytów; rodzaj jest zawsze pojęciem szerszym, gatunek jest zawsze pojęciem węższym. Jest np. rodzaj ptaków i ryb; w obrębie tego rodzaju pojawiają się gatunki. Jest pewien rodzaj owadów; w obrębie tego rodzaju pojawiają się gatunki, które wytwarzają miód. W tym układzie rodzaj jest zawsze pojęciem nadrzędnym w stosunku do gatunku, natomiast wartość systematyczna rodzajów i gatunków jest różna.

Ten sposób używania pojęć jest zrozumiały, skoro uświadomimy sobie, że definicja pojęcia ustaliła się w dziejach myśli europejskiej na przełomie V i IV-go w.

Definicja pojęcia powstała w ogniu walki między realistą Sokratesem, a nominalistami sofistami, jeżeli antycypując można użyć w tym przypadku określeń nominalista i realista.

Sofiści uczyli, że pojęcia nie przedstawiają rzeczywistości, że można dowolnie kształtować znaczenie pojęcia. Zadaniem nauczania jest wyrobienie umiejętności nadania pojęciu takiego znaczenia, jakie w danej chwili jest korzystne. Te igraszki słowne były łatwe, ponieważ nie ustalono definicji pojęcia. Przeciwko tezom sofistów wystąpił Sokrates, któremu chodziło o pojęcie tak zdefiniowane, aby dokładnie było wiadomo, do jakiej odnosi się rzeczy. Z kolei Platon obdarzył pojęcia bytem nie tylko niezależnym od świata zmysłowego, ale uczynił świat zmysłowy zależny od pojęć, idei. Byt zmysłowy stał się odbiciem idei. Idee są extra rem. Arystoteles sprowadził idee in rem. Pojęcie — to umysłowe uchwycenie istoty rzeczy, tego co jest w rzeczy, ale tak, że jest wspólne wszystkim rzeczom danego gatunku. Tu tkwi związek gatunku z istotą rzeczy, czyli „formą", a więc z nauką o przyczynach i metafizyką.

K. Linneusz ustalił, jak to wiemy, sposób używania tych terminów, ale przyjął je z pewnym balastem metafizycznym.

Te idola, to jedno ze źródeł stałych kłopotów, które mamy z omawianym pojęciem w biologii.


CAROLI LINNAEI
PROF. MED. ET BOTANIC. IN ACAD. REG. UPSAL. ACAD. IMPERIALIS N. C. REGG. MONSPEL. ET SCIENT. SUECIAE SOCII
ORATIO
DE
TELLURIS HABITABILIS INCREMENTO.
ET
ORATIO
LUGDUNI BATAVORUM,

Rys. 4.

Linné przedstawia pierwotne swe poglądy na powstawanie gatunków w rozprawie pt. *Oratio de telluris habitabilis incremento*, 1743.

Oto kilka cytatów:

Str. 20 § 13.

Unum individuum ex Hermaphroditis, et unicum par reliquorum viventium fuisse primitus creatum, sana ratio videtur clarissime ostendere.

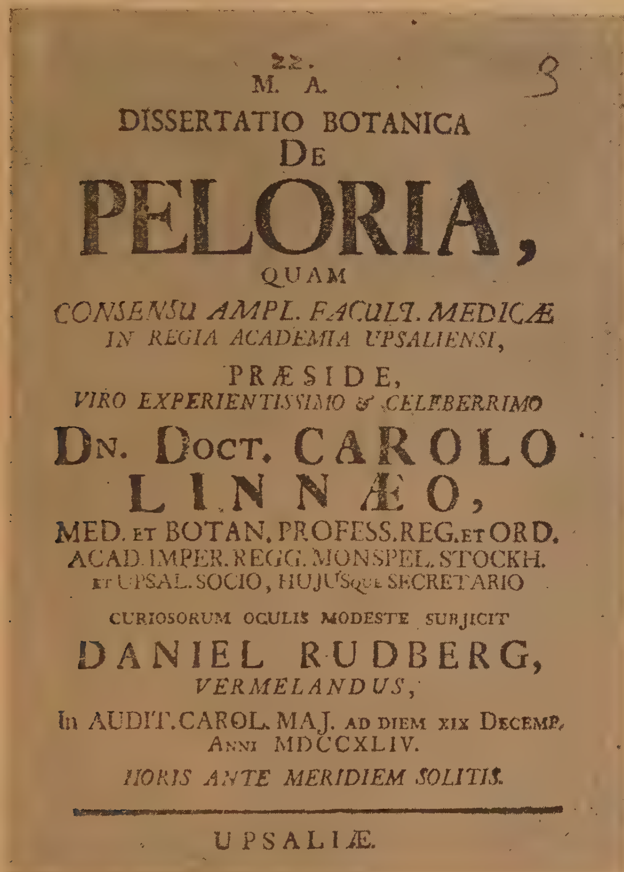
Wydaje się, że zdrowy rozsądek wskazuje bardzo jasno, iż pierwotnie zostało stworzone jedno indywiduum z hermafrodytów i została stworzona jedna para z reszty istot żywych.

Str. 22 § 16.

Ut verbo me expediam, non multum a veritate me aberraturum confido, si dixerim, omnem C o n t i n e n t e m   t e r r a m fuisse in i n f a n t i a   m u n d i   a q u i s   s u b m e r s a m et vasto

Oceano obtectam, praeter unicam in immenso hoc pelago insulam, in qua commode habitaverint Animalia omnia, et Vegetabilia laete germinaverint.

Aby rzecz wyłożyć tuszę, że nie wiele od prawdy odejdę, jeżeli powiem, że ląd cały w dzieciństwie świata był zalany wodami i zakryty potężnym oceanem, poza jedną jedyną wyspą w tym olbrzymim morzu, na której to wyspie wygodnie mieszkały wszystkie zwierzęta i rośliny bujnie kiełkowały.


22.
M. A.
3
DISSERTATIO BOTANICA
DE
PELORIA,
QUAM
CONSENSU AMPL. FACULT. MEDICÆ
IN REGIA ACADEMIA UPSALIENSI,
PRÆSIDE,
VIRO EXPERIENTISSIMO & CELEBERRIMO
DN. DOCT. CAROLO
LINNÆO,
MED. ET BOTAN. PROFESS. REG. ET ORD.
ACAD. IMPER. REGG. MONSPEL. STOCKH.
ET UPSAL. SOCIO, HUJUSQUE SECRETARIO
CURIOSORUM OCULIS MODESTE SUBJICIT
DANIEL RUDBERG,
VERMELANDUS,
In AUDIT. CAROL. MAJ. AD DIEM XIX DECEMB.
ANNI MDCCXLIV.
HORIS ANTE MERIDIEM SOLITIS.

UPSALIÆ.

Rys 5.

Rozprawa *Dissertatio Botanica De Peloria* — 1744 — jest pierwszym drukowanym śladem opowiedzenia się Linneusza za możliwością powstania nowych gatunków w czasie.

LOCUS

Str. 5 w. 10

Locus autem hic insula quaedam maritima est, septem circiter miliaria Upsalia distans, ***Norra Gaosskiaeret*** *appellata,*

in regno Sveciae, Provincia Roslagia, Paroecia Riala & Sacella Nordliustero, sita. Hic non infrequens crescit.

MIEJSCE

Miejsce to jest pewną wyspą morską w odległości mniej więcej 7 mil od Upsali, zwaną Norra Gaosskiaeret (Północna Wyspa Gęsia), w królestwie szwedzkim, prowincji Roslagia, parafii Riala i wikariacie Nordliustero. Tam występuje zgoła nierzadko.

HISTORIA

Str. 5, w. 19.

Anno 1742. Studiosus quidam, nomine ***M. Zioberg,*** *Roslagus, annis aliquot ad Upsaliensem Academiam tum in aliis scientiis, tum etiam in Botanica, bene collocatis, ad natale solum profectus, quaeque rariores ibi inveniri possent, herbas quaesiturus, hanc primam detexit, eamque, ut antea sibi non visam, herbario suo inseruit, qualis tamen eius esset natura ac indoles, quantoque in pretio inventio eius habenda esset, ipse ignarus.*

HISTORIA

Rok 1742. Student pewien M. Zioberg, Roslagus, po odbyciu kilkuletnich studiów w zakresie rozmaitych nauk, a także botaniki, w Upsalskiej Akademii pojechał do ojczystej ziemi, aby poszukać, czy nie dało by się tam znaleźć rzadszych roślin. Odkrył jako pierwszą właśnie tę roślinę i umieścił ją w swoim zielniku, jako że jej uprzednio nie widział. Nie zorientował się sam jaka jest jej istota, jakie są jej własności, oraz jaką wartość będzie miało jego odkrycie.

NOMEN

Str. 14, w. 3.

...hanc nos herbam ***Peloriam*** *nuncupavimus, nomine, ut putamus, haud incongruo, utpote cuius origo a graecorum πέλωρ arcessenda est.*

NAZWA

...tę roślinę nazwaliśmy Pelorią, jak sądzimy, całkiem odpowiednio, jako że jej pochodzenie należy odnieść do greckiego wyrazu „potwór"

Str. 17, w. 13.

Si certo statui posset Peloriam esse speciem hybridam ex Linaria aliaque planta oriundam, nova in regno vegetabili veritas emergeret eaque longius heic, quam in animali progressa, utpote in quo partus hybridi virtute se propagandi carent, e. g. muli, aliaque eiusmodi animantia. Peloria vero propagari exinde videtur, quod



Rys. 6.

perfecta habeat semina, atque in loco natali sponte copioseque multiplicetur. Id tantum futuris indagandum est experimentis, an ex peloriae seminibus Linaria unquam enascatur? Quod is, ut probabile ex iam observatis videtur, non accidat, sed constans ea maneat, prodigiosa inde sequitur Thesis: fieri nimirum posse, ut novae in regno vegetabili species proveniant; ut genera in fructificatione differentia, una eademque natura & vi gaudeant; immo ut unum idemque genus diversas habeat frucificationes. Quo ipso fructificationis fundamentum, quod Botanicae totius scientiae idem est, convelleretur, & classes plantarum naturales infringerentur: ut adeo in Peloria nostra stupendum naturae foetum omnes, artis nostrae periti, haud immerito admiraturi sint.

Gdyby udało się z pewnością stwierdzić, że *Peloria* jest mieszańcem, gatunkowym, który powstał z *Linarii* i jakiejś innej rośliny, objawiłaby się nowa prawda w królestwie roślinnym i ona tutaj mocniej zarysowałaby się niż u zwierząt, jako że u zwierzęcia mieszańce nie są płodne np. muły i inne tego rodzaju zwierzęta. Tymczasem *Peloria*, jak się zdaje, rozmnaża się dlatego, ponieważ ma doskonałe nasiona, a w miejscu pochodzenia rozmnaża się samorzutnie i obficie. W przyszłości tylko należy zbadać doświadczalnie czy z nasion *Pelorii* kiedykolwiek wyrośnie *Linaria*. Jeżeli zaś się to nie zdarzy, co wydaje się prawdopodobnym na podstawie dotychczasowych obserwacji, a zostanie rośliną stałą, nadzwyczajna z tego wynika teza: Może się zaiste zdarzyć, że nowe gatunki powstają w królestwie roślinnym; że gatunki mimo różnicy w owocowaniu (budowie kwiatów) mają tę samą istotę i własności, ponadto że jeden i ten sam rodzaj może mieć różne sposoby kwitnięcia. Tym samym zasada owocowania, która jest podstawą całej wiedzy botanicznej zostałaby obalona i naturalne gromady roślin rozpadałyby się, tak że w naszej *Pelorii* wszyscy znający się na rzeczy będą całkiem słusznie podziwiali zdumiewający płód natury.

Z przytoczonych cytatów wynika, że Linné już w 1744 r. zaczyna zarzucać teorię stworzenia wszystkich gatunków, chociaż jeszcze w 1743 r. w przytoczonej *Oratio de telluris habitabilis incremento* podaje swe poglądy o stworzeniu wszystkich gatunków w raju. W 1751 r. w Philosophia Botanica przytacza nasz autor oba poglądy.

Str. 99, w. 5.

157. SPECIES (155) tot numeramus, quod diversae formae in principio sunt creatae.

Tyle gatunków liczymy ile różnych form zostało na początku stworzonych.

Str. 99 § 157.

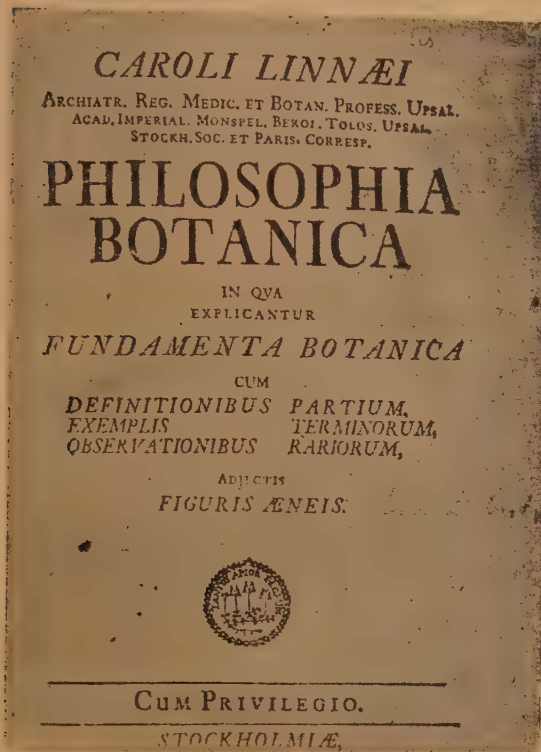
Novas species dari in vegetabilibus negat generatio continuata, propagatio, observationes quotidianae, Cotyledones.

Dubium movere Marchant. act. paris. 1719; Ego in Peloria 1744; Gmelinus in orat. inangur. 1749, vide Amoenit, acad. 71.

Ciągły rozród, rozmnażanie, codzienne obserwacje, liścienie przeczą, aby nowe gatunki mogły powstawać w świecie roślinnym. Podnieśli wątpliwości Marchant w act. paris. 1719; Ja w *Pelorii* 1744; Gmelinus w mowie z 1749 — patrz *Amoenit, acad.* 71.

Mimo rozprawy o *Pelorii* pierwszeństwo daje Linneusz wyraźnie tezie, że w czasie nowe gatunki nie powstają.

Rozprawa *Dissertatio Botanica Metamorphoses Plantarum sistens* z 1755 r. zawiera interesujący rozdział o odmianach. (Rodz. XVIII i XIX).



CAROLI LINNÆI

ARCHIATR. REG. MEDIC. ET BOTAN. PROFESS. UPSAL.
ACAD. IMPERIAL. MONSPEL. BEROL. TOLOS. UPSAL.
STOCKH. SOC. ET PARIS. CORRESP.

PHILOSOPHIA
BOTANICA

IN QVA
EXPLICANTUR

FUNDAMENTA BOTANICA

CUM

DEFINITIONIBUS PARTIUM,
EXEMPLIS TERMINORUM,
OBSERVATIONIBUS RARIORUM,

ADJECTIS
FIGURIS ÆNEIS.

CUM PRIVILEGIO.

STOCKHOLMIÆ,

Rys. 7.

Str. 18, w. 4.

Praeter antecedentem metamorphosin, est etiam aliqua in vegetabilibus, de qua botanici adhuc non convenerunt, quae ***Varietates Constantes*** *dictas sub se comprehendit. Cum botanici vidissent eandem speciem in diverso climate vel solo, variare, primum ex illis novas species constituerunt; quo accidit, ut numerus plantarum nimis augeretur, nulli dum limites essent. Recentiores itaque botanici, varietates ad species suas reducere coeperunt, ne entia, praeter necessitatem, multiplicarentur. Botanici, qui videbant solum & coelum tam multas fecisse varietates, intelligebant quoque, quod solum & coelum eas reducerent, quam ob caussam, in hortis botanicis, eas seminabant; at, cum viderent eas in uno eodemque solo & climate, aeque constantes esse contendebant aliqui, quod non pro varietatibus, sed distinctis speciebus haberentur, licet duae plantae admodum similes, & ceterae ex eodem genere multum dissimiles essent, ut Fumaria bulbosa radice cava & non cava, & multae aliae. Inde ortus est dissensus Botanicorum in scientia botanica, qui hoc tempore plurimum molestiae adfert, quamdiu Botanici caussam rei nesciant.*

Str. 19, w. 1.

Sexu plantarum vel foecundatione tam dilucide ante oculos posita, ut totus fere orbis potuisset eam videre, & observationibus hac in parte solerter institutis, invenerunt Botanici, generationem hybridam, interdum in plantis aeque ac animalibus, dari; qua ex duabus distinctis plantis, tertia provenit, uti Mulus ex Equo & Asino. Animalia, quae partu hybrido provenerunt, genus suum rarius propagant; an vero haec lex aeque constans sit in plantis, adhuc incertum est: Ex illis enim, quae adhuc observarunt botanici, interdum affirmatur. interdum negatur. Si jam ita est, quod admodum verissimile videtur, plantas, aliquas hybridas semine propagari, fundamentum aliquando accipient varietatum constantium,

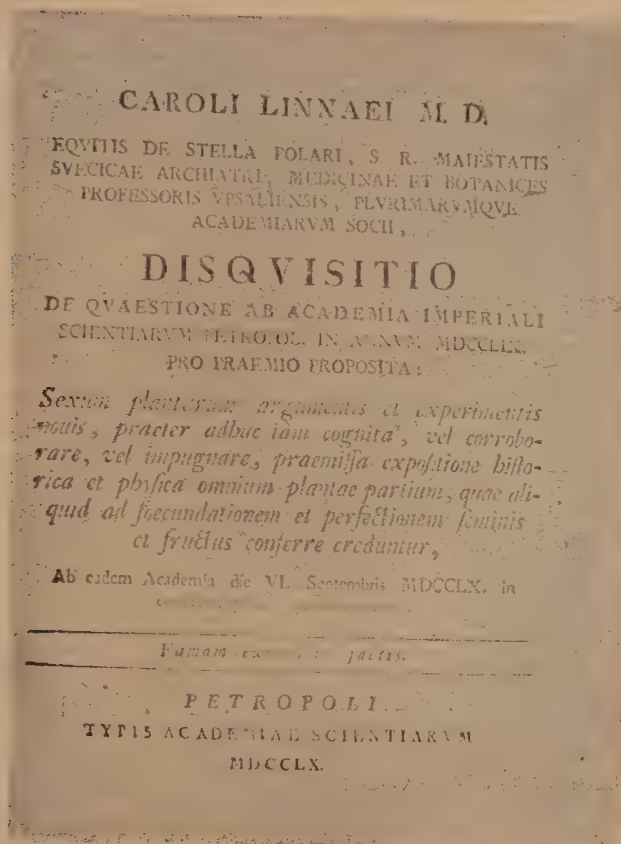
Str. 18, w. 4.

Prócz poprzedzającej przemiany jest jeszcze inna w roślinach, co do której botanicy dotychczas poglądów nie uzgodnili, a która obejmie tzw. ustalone odmiany. Gdy botanicy zobaczyli, że ten sam gatunek w różnym klimacie i w różnej glebie zmienia się, ustanowili ze zmian tych początkowo nowe gatunki. Dzięki temu liczba gatunków roślin nadmiernie powiększyła się, jako że nie było wcale granic. Dlatego współcześniejsi botanicy zaczęli odmiany sprowadzać do właściwych gatunków, aby bytów ponad potrzebę nie mnożyć. Botanicy, którzy widzieli, że gleba i klimat wywołały tyle odmian, pomyśleli, że gleba i klimat może ich ilość zmniejszyć. Dlatego wysiewali je w ogrodach botanicznych, a gdy zobaczyli, że w tej samej glebie i w tym samym klimacie są one przecież stałe, dążyli niektórzy do tego, aby uważać je nie za odmiany, ale za osobne gatunki, chociaż by to były dwie rośliny zresztą zupełnie podobne, a inne rośliny z tego samego rodzaju bardzo niepodobne, jak *Fumaria bulbosa radice cava et non cava* i liczne inne. Stąd powstała niezgoda botaników, która jest w tej chwili bardzo kłopotliwa, a trwać będzie do chwili, jak długo botanicy nie poznają przyczyny tej rzeczy.

Str. 19, w. 1.

Gdy płeć roślin, albo zapłodnienie zostało bez wszelkich wątpliwości odkryte, tak że cały niemal świat mógł to zobaczyć i gdy poczyniono wnikliwe obserwacje, stwierdzili botanicy, że mieszańce zdarzają się tak w świecie roślinnym jak zwierzęcym, że z dwu różnych roślin powstaje trzecia jak muł z konia i osła. Mieszańce zwierzęce rozmnażają się rzadziej. Dotychczas jest rzeczą niepewną czy prawo to jest równie stałe i u roślin. Na podstawie tych faktów, które botanicy dotychczas zaobserwowali, już to potwierdza się, już to nie potwierdza się. Jeżeli już tak jest co wydaje się bardzo prawdopodobne, że mieszańce rozmnażają się z nasion, przyjmą jako zasadę powstawanie odmian stałych.

Zdanie ...„*varietates ad species suas reducere coeperunt ne e n t i a, praeter necessitatem, multiplicarentur*“ — jest zdaniem typowo arystotelesowskim i średniowiecznym.



CAROLI LINNAEI M. D.

EQVITIS DE STELLA POLARI, S. R. MAIESTATIS SVECICAE ARCHIATRI, MEDICINAE ET BOTANICES PROFESSORIS VPSALIENSIS, PLVRIMARVMQVE ACADEMIARVM SOCII,

DISQVISITIO

DE QVAESTIONE AB ACADEMIA IMPERIALI SCIENTIARVM PETROPOL. IN ANNVM MDCCLIX. PRO PRAEMIO PROPOSITA:

Sexum plantarum argumentis et experimentis novis, praeter adhuc iam cognita, vel corroborare, vel impugnare, praemissa expositione historica et physica omnium plantae partium, quae aliquid ad foecundationem et perfectionem seminis et fructus conferre creduntur,

Ab eadem Academia die VI. Septembris MDCCLX. in [illegible]

Famam [illegible] factis.

PETROPOLI

TYPIS ACADEMIAE SCIENTIARVM

MDCCLX.

Rys. 8.

Zagadnienie hierarchii systematycznej odmiany, szczególnie jej stosunek do gatunku zostaje nierozstrzygnięte.

Linneusz opowiada się ze generatywnym powstaniem odmian ustalonych, rozmnażających się z nasion. Powątpiewa o możliwości powstawania odmian przez działanie warunków zewnętrznych. Oczywiście Linneusz nie uwzględnia czynnika czasu przy rozpatrywaniu znaczenia środowiska na powstanie jednostek systematycznych.

Historia organizmów według poglądów XVIII w. to okres bardzo krótki. Kilka tysięcy lat zaledwie.

W 1759 r. ustalają się poglądy Linneusza na zagadnienie powstawania gatunków. Cesarska Akademia Nauk w Petersburgu ogłosiła w 1759 r. konkurs na rozprawę o płci roślin. Karol Linneusz otrzymał pierwszą nagrodę za rozprawę Disquisitio de sexu plantarum. Z naszego punktu widzenia rozprawa ta ma szczególne znaczenie. Linneusz przyjmuje tezę, że gatunki roślin powstają w czasie — na drodze hybrydyzacji.

Str. 27, 28, 29, 30.

Tres ego, vel quatuor, veras plantas hybridas meo primum exstitisse tempore, his oculis vidi, quas ordine enumerabo.

1) VERONICA SPURIA descripta in Amoenitat. Tom. III p. 35. Veronica maritima matre, et Verbena officinali patre, nata est, taleis facile propagatur, fructificatione matrem tota quanta refert, et foliis patrem.

2) DELPHINIUM HYBRIDUM in area horti prodiit, ubi Delphinium elatum et Napellus una creverant; internis partibus, seu fructificatione, matri tam simile est, ac externis, seu foliis, patri; et quia plantis adeo affinibus orignem debet, suis propagatur seminibus, quorum aliquot vobis nunc mitto.

3) HIERACIUM HYBRIDUM, lectum 1753 in nostris alpibus a Domino D. C. S. calice crassiviculo, fusco, lanato; scapo superne hirsuto et bracteis, omni fructificatione adeo speciem matris suae, Hieracii alpini, prae se fert, ut quiuis hoc tyro peruideat; at folia glabritie, dentibus ac tota structura, tam manifeste patris, Leontodinis Taraxaci sunt, ut a nemine in dubium vocari possit.

4) TRAGOPOGON HYBRIDUM ante duos annos nactus sum circa autumnum in areola horti, ubi Tragopogon pratense et Tragopogon porrifilium plantaveram, sed hyems superueniens destruxit semina Proximo praeterito anno dum Tragopogon pratense florebat, primo mane abradebam pollen, et circa octauam matutinam adspergebam pistilla polline e Tragopogone porrifolio, et filo circumligato notabam calyces. Matura inde semina collegi, circa autumnum ea in loco separato serui, quae germinabant, et hoc anno 1759 dabant flores purpureos, basi luteos, cuius semina nunc mitto. Nescio num experimentum aliud certius monstret generationem, quam hoc ipsum. Hae, quin verae sint nouae species, generatione hybrida productae, dubitari nequit. Ex his vero omnibus discimus, partum hybridum, quod ad medularem substantiam, seu internam plantam, aut fructificationem, matris exactam imaginem, sed quoad folia, et alia externa, patris esse.

Haec ergo novum fundamentum naturae peritis sternunt in quae multa inaedificent. Nam inde sequi videtur, plures illas plantarum, in eodem genere, species initio non nisi unam plantam fuisse, et ex hac generatione hybrida exortas esse. Multa illa Gerania africana, quae omnia ad promontorium Bonae spei crescunt, nec sua sponte extra Africam meridionalem vivere visa sunt, quaeque ut a reliquis omnibus Geraniis differunt calyce monophyllo, pedunculis multifloris, corolla irregulari, staminibus septem fertilibus, et tribus castratis, seminibus non calyptratis, sed arista pilosa instructis; ita

in his omnibus notis inter se consentiunt, quantumvis radice, caule et foliis dissimilia, haec, inquam, Gerania facile Botanicos adducent, ut credant, species eiusdem generis in vegetabilibus esse diversas, plantas, quot in una specie florum commixtiones factae sint, et vicissim genera nil aliud esse, quam plantas eadem matre, at diversis patribus, ortas. At, num omnes hae species temporis filiae sint, an vero in ipso rerum primordio has vias definito quodam specierum numero Creator limitaverit, certo pronunciare non audeo. Id autem persvasum mihi est, hanc multiplicandi rationem naturae systema et oeconomiam non tollere, cum quotidie animadvertam, insecta, quae una specie generis eiusdem aluntur, altera etiam contenta esse.

Qui Achyranthem asperam vel semel vidit, eiusque spicam, partes floris, minima etiam et peculiaris formae nectaria atque calyces fructiferos, reflexos, facile crederet, se hosce flores ab omnibus in orbe universo nullo negotio posse distinguere; cum vero flores, quod ad minimas etiam particulas, prorsus eosdem in Achyranthe indica deprehendit, sed folia hic crassa, magna, obtusa, undulata animadvertit, videre, eandem herbam sibi videtur, sub larva Xanthii strumarii, ut alia multa praeteream.

Novus hic aperitur campus Botanicis, in quo diversarum plantarum polline diversis foeminis viduis factis insternendo, novas tentent efficere species vegetabilium. Et si haec non displicuise animadverto, magis incitabitur animus, ad illud, quod vitae mihi reliquum est, hisce consecrandum experimentis, quae et iucunditate et usu maximo se commendant. Multis enim argumentis adductus plerasque illas et praestantissimas varietates plantarum, in culina expetitas, eiusmodi generatione enatas esse, ut multae illae Brassicae, Lactucae, etc. et ob hanc causam a loco non mutari, opinor. Unde illi regulae fidem habere non possum, quae varietates omnes ex soli diversa natura oriri tradit; quae si vera foret, plantae etiam, cum loco denuo mutarentur, et pristinam recuperarent faciem.

Dari itaque sexum plantarum a priori, ab experimentis, a generationibus hybridis patet.

Na własne oczy widziałem, że trzy względnie cztery prawdziwe mieszańce roślinne istniały już za mego życia. Wymienię je po kolei.

1. *VERONICA SPURIA* opisana w Amoenitates tom III-ci, str. 35. Urodziła się z matki *Veronica Maritima* i ojca *Verbena Officinalis*.

Rozmnaża się łatwo przy pomocy sadzonek. Owocowaniem przypomina zupełnie matkę, a liśćmi ojca.

2) *DELPHINIUM HYBRIDUM* powstało na terenie ogrodu, gdzie *Delphinium elatum i Napellus* razem rosły. Z wewnętrznych części czyli

sposobu owocowania jest podobny do matki, a z zewnętrznych, czyli liści do ojca i ponieważ pochodzi od roślin dosyć zbliżonych do siebie, rozmnaża się z własnych nasion, których kilka wam teraz posyłam.

3) *HIERACIUM HYBRIDUM* znalezione w 1753 r. w naszych Alpach przez pana D. C. S., o kielichu grubawym, ciemnym kutnerowatym, z łodygą u góry owłosioną i podkwiatami. Całym owocowaniem przypomina gatunek matki swojej *Hieracium alpinum*, a liście gołe, ząbki i cała struktura są bardzo podobne do ojca *Leontodon Taraxacum*.

4) *TRAGOPOGON HYBRIDUM* wytworzyłem przed dwoma laty jesienią na terenie ogrodu, gdzie posadziłem *Tragopogon pratense* i *Tragopogon porrifolium* obok siebie, lecz zima która nadeszła zniszczyła nasiona. Zeszłego roku, gdy *Tragopon pratense* zakwitł, zupełnie rano zebrałem pyłek i o godzinie 8-ej opyliłem słupki tego gatunku pyłkiem z *Tragopogon porrifolium*, oraz nitką zawiązałem kielichy. Następnie dojrzałe nasiona zebrałem na jesieni, wysiałem je na osobnym miejscu, które to nasiona wykiełkowały i w tymże roku 1759 dały kwiaty purpurowe o podstawie żółtej. Nasiona tych roślin teraz posyłam. Nie wiem czy inne doświadczenie może pewniej wykazać rozmnażanie płciowe, niż właśnie to. Nie należy wątpić, że są to nowe gatunki, które powstały przez krzyżowanie. Na podstawie tego wszystkiego wnioskujemy, że mieszańce mają substancję rdzeniową względnie wewnętrzną część rośliny albo sposób owocowania — matki, natomiast jeśli chodzi o liście i inne cechy zewnętrzne — ojca.

Wszystko to więc kładzie nowy fundament przyrody, na której wiele rzeczy można by zbudować. Wydaje się bowiem, że z tego wynika iż liczne gatunki tego samego rodzaju na początku były tylko jedną rośliną i że liczne gatunki powstały na drodze krzyżowania się.

Liczne owe *Gerania* afrykańskie, które rosną na Przylądku Dobrej Nadziei, a których nie widziano, aby rosły na stanowiskach naturalnych poza Afryką Południową, różnią się od wszystkich innych Geranii jednolistnym kielichem, szypułkami wielokwiatowymi, koroną nieregularną, pręcikami siedmioma płodnymi i trzema płonymi, nasionami bez kaliptry, lecz zaopatrzonymi w ostre żeberka. Tak więc we wszystkich tych cechach zgadzają się między sobą, chociaż różnią się korzeniem, łodygą i liśćmi Pokrojem rzekłbym łatwo przypominają botanikom *Gerania*, tak że oni wierzą, iż gatunki tego samego rodzaju są różnymi roślinami, które z jednego gatunku przez skrzyżowanie kwiatów powstały i z drugiej strony rodzaje niczym innym nie są, jak roślinami pochodzącymi od tej samej matki, a od różnego ojca.

Natomiast nie ważę się z pewnością twierdzić, czy wszystkie te gatunki są córami czasu, czy na samym początku rzeczy sposoby te ograniczył Stwórca po ustaleniu określonej ilości gatunków. Przekonany jednak jestem o tym, że ten sposób rozmnażania nie burzy systemu przyrody i ekonomii, ponieważ codziennie spostrzegam, że owady, które żywią się jednym gatunkiem tego samego rodzaju, zadawalają się także innym gatunkiem.

Kto *Achyrantis aspera* choć raz widział, jej kłos, części kwiatów, bardzo małe i dziwnego kształtu miodniki, oraz kielichy kwiatów odgięte, uwierzyłby łatwo, że kwiaty te bez żadnego trudu będzie umiał odróżnić wśród wszystkich kwiatów na świecie. Gdy zaś zobaczy, że kwiaty te aż do najmniejszych szczegółów przypominają kwiaty *Achyrantis indica*, a spostrzeże że tutaj liście są grube, wielkie, tępe, kędzierzawe, wyda mu się, że ogląda

tę samą roślinę pod zasłoną *Xantium Strumarium*, — żeby pominąć wiele innych.

Tutaj nowa dziedzina pracy otwiera się dla botaników. Niechaj usiłują otrzymać nowe gatunki pokrywając pyłkiem rozmaitych roślin słupki kastrowanych kwiatów innych roślin. Widzę, że mi się to bardzo podoba i skłaniam się do tego, aby resztę życia mojego tym poświęcić eksperymentom, które pociągają ku sobie tak przyjemnością jak i wielkim pożytkiem, albowiem wieloma argumentami przekonany sądzę, że liczne owe i wspaniałe odmiany roślin, w kuchni pożądane jak np. liczne owe kapusty, sałaty itp. w ten sam sposób powstały i, jak uważam, z tego powodu nie zmieniają się w zależności od miejsca, stąd też nie mogę dać wiary tej regule, która wyprowadza wszystkie odmiany z różności gleby; gdyby ta reguła była prawdziwa rośliny zmieniałyby się od nowa ze zmianą środowiska i pierwotny odzyskiwałyby kształt. Jest rzeczą oczywistą, że rośliny posiadają płeć, co z góry było można założyć, a co wynika z eksperymentów i krzyżówek.

Autonomia gatunku świadczy o metafizycznym ujmowaniu tej jednostki systematycznej. Linneusz nie wiąże gatunku ze środowiskiem.

Przytoczone wyjątki dowodzą niezbicie, że Linneusz zmienił stanowisko, które zajmował w *Oratio de telluris habitabilis incremento* — 1743.

Nie tylko przyjmuje możliwość powstawania nowych gatunków w czasie, ale chciałby poświęcić się eksperymentom nad tworzeniem nowych gatunków na drodze hybrydyzacji.

Spostrzega trafnie ogromne znaczenie praktyczne tego zagadnienia. Zaprzecza jednak, aby wpływ warunków zewnętrznych mógł przyczynić się do powstawania nowych jednostek systematycznych.

Powstawanie gatunków w czasie to nowy fascynujący dla uczniów Linneusza temat: *Amoenitates academicae* zawierają liczne rozprawy, które wyszły spod pióra wychowanków znakomitego Szweda. Tak np. w tomie IV-tym z 24-ech rozpraw, 3 bezpośrednio lub pośrednio dotyczą zagadnienia powstania gatunków w czasie, a mianowicie:

1. Christiana L. Ramströma z Sztokholmu: *Generatio ambigena* z 1759.
2. J. M. Grobera z Götheborgu: *Fundamentum fructificationis* z 1762.
3. H. Chr. Daniela Wilcke z Sztokholmu. *Politia Naturae* 1760.

Jaka jest treść rozprawy *Generatio ambigena* (Dwa źródła rozmnażania)?

Po interesującym wstępie, charakterystycznym dla prac naukowych z okresu baroku, przechodzi Ramström do rozważań biologicznych. Mówi o zarzuceniu teorii samorództwa, a uznaniu powszechnym tezy Harveya *ex ovo omnia*. W przeciwieństwie do samorództwa — *generatio aequivoca*, rozmnażanie, czy powstanie życia z jaja nazywa się *ge-*

neratio univoca. Uczeni pojmują w różny sposób tę generatio univoca. Sam H a r v e y twierdzi, że w jaju jest zarodek, a plemnik pobudza jajo do rozwoju, natomiast L e e u w e n h o c k widzi w plemniku przyszły organizm, który rozwija się na podłożu jaja. R a m s t r ö m staje na stanowisku, że sprawy tej nie można rozstrzygnąć przy stanie wiedzy jemu współczesnej. W każdym razie powiada autor, jest rzeczą pewną, iż tak jajo jak i plemnik są konieczne do tego, aby powstał nowy organizm.

W § 9 czytamy:

rośliny składają się z substancji rdzeniowej i korowej *(substantia medullaris et corticalis).* Substancja rdzeniowa, główne podścielisko życia rośliny, ma tę zadziwiającą własność, że mnoży się w nieskończoność, przyrasta i powiększa swą masę w stożkach gałęzi... Substancja rdzeniowa rozpada się na nasiona, lecz nasiona nie wystarczają, podobnie jak sama substancja rdzeniowa, do utrzymania ciągłości życia i rozmnożenia go, jeżeli przedtem przez pyłek, albo męski organ nie zostanie zapłodniona.

§ 10.

Z substancji rdzeniowej powstają nasiona, z substancji korowej pręciki, zawierające pyłek. Tak więc substancja korowa pochodzi od ojca przez pyłek.

Wszystko to pokazuje nam zdrowy rozsądek. — *Haec omnia sana ratio nobis ostendit.*

Ponieważ każda prawda przyrody wymaga udowodnienia obserwacjami i doświadczeniami usiłować będziemy uczynić to w dalszym ciągu.

§ 16.

Co się tyczy roślin mamy dowód świetny w Upsali w postaci córki *Veronica maritima* zapłodnionej przez *Verbena officinalis.* Widzimy więc w tym mieszańcu owocowanie substancji rdzeniowej, do matki zupełnie podobne, zewnętrzne zaś, jak liście i inne części korowe, są bardzo podobne do ojca. Zdarzyło się przed kilkoma laty, że w jakimś kątku Ogrodu Akademickiego, gdzie *Tragopogon pratense* i *Tragopogon porrifolium* razem rosły, wyrosła roślina przypominająca *Tragopogon pratense*, lecz o kwiatach czerwono-żółtych. Wziął więc szlachetny pan prezes (L i n n e u s z) w 1757 r. dla doświadczenia *Tragopogon pratense*, który kwiaty dopiero co otworzył, pyłek z nich zniszczył i po zerwaniu kwiatów gatunku *T. porifolium* pylniki do niego (*T. pratense*) lekko przycisnął. Roślina ta zaowocowała, nasiona wysiano w 1758, a już w bieżącym roku 1759 rośliny kwitły i zaowocowały. Jest rzeczą godną uwagi, że kwiaty tych roślin, względnie korony, prawie do podstawy były purpurowe, że kielich był dłuższy niż u T. pratense. Jednym słowem części zewnętrzne były podobne do ojca, a wewnętrzne do matki.

Nadejdzie może dzień, który wykaże, że liczne *Gerania* afrykańskie i *Mesembrianthemata* oraz liczne gatunki wymienionych rodzajów powstały w ten sposób, że wędrowny ojciec zapłodnił roślinę matkę... *ex forte provenisse, quod Pater peregrinus plantam foecundaverit matrem.*

I chociaż mieszańce są często bezpłodne tak w królestwie roślinnym, jak zwierzęcym, nie jest to jednak regułą powszechną, lecz reguła ta liczne dopuszcza wyjątki jak np. we właśnie wymienionym Tragopogonie. Z tych faktów nowe może wyniknie prawidło dla botaników: „*Tot species dici congeneres, quot eadem ex substantia medullari seu matre sint progenitae.* — Tyle gatunków zaliczać do jednego rodzaju ile powstało z tej samej substancji rdzeniowej, czyli matki."

Jaki jest stosunek substancji rdzeniowej do korowej?

„...*sedem Vitae primariam in medullari substantia collocatam esse, corticalem vero medullari alimenta praebere*". — Pierwotne siedlisko życia tkwi w substancji rdzeniowej, substancja korowa dostarcza pożywienia substancji rdzeniowej".

Zatem substancję rdzeniową uważa się za podścielisko zjawisk życiowych.

Jan G r o b e r z Götheborgu pisze:

§ 10.

Dawno już miałem podejrzenie, lecz nie ważę się podać za prawdę niewątpliwą, lecz jako hipotezę, że wszystkie gatunki jednego rodzaju z początku tworzyły jeden gatunek, następnie mnożyły się per generationes hybridas tak, że wszystkie gatunki tego samego rodzaju pochodzą z tej samej matki, a różnego ojca.

...że może gatunki należy przypisać czasowi."

§ 11.

„Dziwnym może się wydać wielu osobom powyższe przypuszczenie, które podaje możliwość powstania nowych gatunków i mógłby kto sądzić, że godzi w ekonomię przyrody."

§ 12.

„...*quod T. O. Creator in ipso primordio unicum tantum vegetabile ex quovis ordine naturali condiderit postea vero arte, sibi soli reservata, species has adeo diversas se invicem foecundare iusserit, donec tot procreata essent genera, quot iam sunt distincta.*"

„...że Stwórca całego świata na samym początku jedną tylko roślinę stworzył z każdego naturalnego rzędu, następnie sztuką sobie samemu zarezerwowaną nakazał, aby te różne „gatunki" krzyżowały się, aż powstanie tyle rodzajów ile dzisiaj wyróżniamy."

Zatem nie tylko gatunki, ale nawet wyższe jednostki systematyczne, jak rodzaje, powstają według tego badacza na drodze hybridyzacji. G r o b e r zastrzega się, że to jest jego nieudowodniona hipoteza. Gatunki powstają przez zapylenie rodzaju matki pyłkiem innego rodzaju, natomiast odmiany powstają przez zapylenie krzyżowe gatunków tego samego rodzaju.

„...ta hipoteza niech zachęci każdego botanika, aby usiłował... wytworzyć nowy gatunek."

Powyższe teksty wykazują, że Linneusz i jego uczniowie porzucili teorię o równoczesnym powstaniu gatunków. Przezwyciężyli ten pogląd. Gatunki powstają w czasie, powstają nawet współcześnie. Zwolennicy tej nowej teorii zdają sobie doskonale sprawę, na jakie trudności ich teza natrafia, jak np. częsta sterylność mieszańców itp. Jednakże starają się zgromadzić fakty potwierdzające tę hipotezę.

W rozprawie pt. „*Politia Naturae*" (Społeczeństwo Przyrody) Daniel Wilcke wskazuje na walkę jako na proces najbardziej dla przyrody charakterystyczny (*...ut paucis dicam, nil nisi bellum omnium in omnes animadverteret* — streszczając się powiem, że nic jak tylko walkę wszystkich z wszystkimi spostrzeże).

Jednakże walka ta nie jest związana z powstawaniem nowych gatunków, chociaż o zależnościach ekologicznych autor często wspomina.

To *bellum omnium in omnes* nie jest wynalazkiem autora, droga wiedzie prosto do „Lewiatana" Hobesa. Nasuwają się oczywiście myśli o Malthusie i o genealogii walki o byt u Darwina.

Przytoczone teksty nie wyczerpują oczywiście wypowiedzi Linneusza na temat powstawania gatunków. Sądzę jednak, że zagadnienie dostatecznie naświetlają, a są nowe dla polskiego czytelnika.

STRESZCZENIE I WNIOSKI

U większości biologów przeważa opinia, że Karol Linneusz reprezentuje pogląd, iż wszystkie gatunki roślin oraz zwierząt zostały stworzone i nie przybywa gatunków na drodze naturalnej w ciągu rozwoju świata organicznego. Ten pogląd jest zawarty w *Oratio de telluris habitabilis incremento* (1743). Istotnie Linneusz zajmował początkowo takie stanowisko. Pierwszym śladem drukowanym odstępstwa od tej zasady jest rozprawa *De Peloria* (1744).

Jednakże jeszcze w *Philosophia botanica* (1751) daje Linneusz wyraźnie pierwszeństwo pierwotnemu kreacjonizmowi, chociaż przytacza również pogląd przeciwny.

Poprzez rozważania nad stanowiskiem systematycznym odmian, powtarzających się z nasion, oraz na podstawie obserwacji krzyżówek dochodzi Linneusz ostatecznie w 1759 r. do wniosku, że gatunki mogą powstawać na drodze naturalnej przez hybrydyzację. Kreacjonizm ogranicza on do wyższych jednostek systematycznych.

Trudno było Linneuszowi porzucić konstrukcję niezwykle prostą i jasną, opartą na systemie Arystotelesa, konstrukcję, która przyniosła mu sławę.

Podziwiać należy z drugiej strony obiektywizm tego badacza.

Linneusz doczekał się za życia pełnego uznania. Współcześni spostrzegali przede wszystkim ukoronowanie, zakończenie, długiego okresu rozwoju botaniki i zoologii, a nie spostrzegali spękań w budowie systemu Linneusza, spękań, które on sam doskonale widział i znaczenie ich doceniał. Linneusz był, jak o tym świadczą teksty, do końca kreacjonistą, ale kreacjonizm ten w ciągu życia uległ, jak widzieliśmy, modyfikacji.

Nie można uważać Linneusza za ewolucjonistę. Żadna znana mi wypowiedź nie upoważnia do tego. Linneusz nie jest nawet transformistą. Wprawdzie nowe gatunki powstają w czasie na drodze hybrydyzacji, ale stare nie zmieniają się. Wielokrotnie Linneusz wyrażał zasadnicze wątpliwości o wpływie dziedziczenia cech nabytych. Linneusz w żadnym wypadku nie wiąże nowych form systematycznych z warunkami zewnętrznymi.

Z punktu widzenia metafizyki Arystotelesa, mieszańce gatunkowe istnieć nie mogą. Gatunek każdy, to odrębna forma bytu materii. Byty te mieszać się nie mogą, a tymbardziej z pomieszania tego nie może powstać nowy gatunek. Jeżeli powstały krzyżówki międzygatunkowe, to dowód na to, że nie mieliśmy do czynienia z „prawdziwymi" gatunkami. Teza, że nowe gatunki powstają na drodze hybrydyzacji, jest zarzuceniem arystotelizmu.

Okres, w którym zaczęto zwalczać Arystotelesa, nazywamy Renesansem. Pierwsza fizyka i astronomia uwolniła się od metafizyki Stagiryty. Fizyka ilościowa zastąpiła fizykę jakościową.

W wieku XVIII stwierdzamy zasadniczą rewizję poglądów na gatunek w biologii. Uważać można wobec tego wiek XVIII za początek renesansu biologicznego.

Idea o możliwości powstania nowych gatunków przygotowała ewolucjonizm. Ewolucjonizm oznacza ostateczny rozbrat z systemem pojęć matafizyczno-biologicznych Arystotelesa w systematyce.

SUMMARY

In the history of biological sciences on affirms often that C. Linné represents the opinion that all the species of plants and animals have been created and did not arise in the natural way of Nature acts. At first, indeed, C. Linné represented this opinion (see page 198 quotation from *Oratio de telluris habitabilis incremento* (1744).

The first printed trace of desistance to that principle is the treatise *De Poloria* 1744 (see page 199, 200, 201).

Whatever in his work *Philosophia Botanica* (1751). C. Linné still gives the priority t othis initial opinion (see page 202).

Throughout the discussion over the systematical position of fixed varieties as well as on the ground of observation of hybrids, C. L. comes to the final conclusion that *species* may take rise in the course of time (see page 206, 207), quotation from *Inquisition de sexu plantarum*, 1760). C. Linné limits creation to the systematically higher units as genera, ordines.

C. Linné considers in *Inquisitio de sexu plantarum*, that one of the most important problems of botany, a problem of theoretical and practical importance, is the study over experimental creation of species by means of hybridisation. C. Linné refuses to admit that new species may arise thanks to the influence of external conditions.

In the XVIII-th century one did not value enough the time — factor, as according to the common opinion of those days the period of persistance of organisms did not surpass a few thousand years.

A similar point of view has been adopted by Linné's pupils. — (*Amoenitates academicae* 1763).

The thesis that new species may come to existance by hybridisation is a desistance to that of Aristotle. The species of Aristotle is a quite separate form of matter. The crossing of species is principially not possible. If any „interspecific" crossing took place, it only proves that it did not deal with real species, separate entelechiae.

As the refutation of Aristotle's opinions is a characteristic of the epoch of Renaissance, we state that the beginning of the biological Renaissance takes place in the XVIII-th century.

The opinion that species do arise in time by natural way doubtlessly prepared the way to transformism and finally to evolutionism. In evolutionism we bound the arising of systematical units above all with external conditions.

Evolutionism is the ultimate disunion with the concept of species of Aristotle.

LITERATURA

1. Aristoteles: graece e recensione Immanuelis Bekkeri edidit Academia Regia Borussica. Berolini 1831.
2. Hagberg K.: 1940. Carl Linneus. Hamburg.
3. Linneus C. et Rudberg D.: 1744 Dissertatio Botanica de Peloria. Upsaliae.
4. Linneus C.: 1744. Oratio de telluris habitabilis incremento. Lugduni Batavorum.
5. Linneus C.: 1751. Philosophia botanica. Stockholmiae.
6. Linneus C. et Dahlberg N. E.: 1755. Metamorphoses Plantarum. Holmiae.
7. Linneus C.: 1760. Disquisitio de sexu plantarum Petropoli.
8. Linneus C.: 1763. Amoenitates Academicae. Holmiae.

W rozprawie De Peloria znajdujemy interesujący tekst odnośnie zmienności roślin uprawnych, który dodatkowo podaję w tłumaczeniu polskim str. 15 w. 7 oryginału:

Dawniejsi badacze chcieli nas przekonać, że żyto przechodzi w jęczmień, jęczmień w owies, owies wreszcie w stokłosę *(Bromus)*. Bardziej współcześni jednak zdanie to odrzucili jako niezgodne z istotą owocowania, uważając, że wszystko co się rodzi jest podobne do rodziców i że dzikie orły nie mogą zrodzić bezbronnego gołębia.

Nie rozstrzygamy przypuszczenia starożytnych odnśnie żyta, jęczmienia i owsa, utrzymując jednak to, że wiele większą od owych zmianą jest zmiana jakiej uległa Linoria zamieniona w Pelvrię. W o r m i u s już opisał w Muzeum str. 150 kłos zboża początkowo żytni, następnie jęczmienny.

G e r a r d u s w Historia Plantarum str. 65 wspomina o kłosie pszenicy. w którego środkowej części, pojawiło się kilka doskonale wykształconych ziarn owsa.

Na podstawie powyższego konkluduje R a j u s w Cat. ext. 8, że istnieją takie przemiany roślin. lecz tylko w obrębie pokrewnych i zbliżonych gatunków.

Adam Prażmowski

W SETNĄ ROCZNICĘ URODZIN

(1853 — 1920)

100-me anniversaire de naissance

BOLESŁAW HRYNIEWIECKI

(Wpłynęło dn. 1.VIII.53 r.)



Adam Prażmowski, pionier bakteriologii rolniczej w Polsce, urodzony 25 października 1853 r. w majątku Siedliska (pow. Jasło, dawn. Pilzno), należącym do wuja (męża siostry matki) Bilińskiego, był synem Franciszka i Joanny z Telesznickich. Mając lat 10 w r. 1863 stracił ojca. W pamiętnikach, które poznał syn, a które, niestety, zginęły w Warszawie podczas powstania w r. 1944, wspomina, jak raz ojciec wziął go na kolana i prowadził z nim długie rozmowy, a następnego dnia zniknął bez wieści, jako jedna z ofiar patriotycznie nastrojonej młodzieży, która z Galicji przemykała się do Królestwa w roku powstania styczniowego. Po zniknięciu ojca, jak wspomniał w pamiętniku, życie jego wraz z siostrą Jadwigą było bardzo ciężkie. Mieszkali nadal u wujostwa Bilińskich, gdzie matka ich prowadziła gospodarstwo domowe. Wykształcenie średnie otrzymał w Przemyślu, lecz za sprawy polityczne został wydalony z VII-ej klasy. Od 14 roku życia, żyjąc w wielkiej biedzie, zarabiał lekcjami; po wystąpieniu z gimnazjum przyjął miejsce nauczyciela domowego na wsi, gdzie przebywał 2 lata, przygotowując się do egzaminu dojrzałości. Dzięki stypendium w r. 1873 wstąpił do Szkoły Rolniczej w Dublanach, którą ukończył w r. 1876 z odznaczeniem.

Uzyskawszy stypendium, udał się na studia do Uniwersytetu w Lipsku, gdzie specjalnie zainteresował się naukami przyrodniczymi, zwłaszcza botaniką. Kierownikami jego w tej dziedzinie byli prof. dr August Schenk (1815—1891) i docent dr. Christian Luersen (1843—1916). W pracowni Schenka wykonał pierwszą swą pracę z dziedziny bakteriologii, która przyniosła mu tytuł doktorski.

Tymczasowe doniesienie wyników pracy mającej za temat „Badania nad rozwojem i działalnością fermentacyjną niektórych bakterji" ukazało się na łamach „Botanische Zeitung" w r. 1879 (1), by w następnym roku wyjść w Lipsku w postaci skończonej dysertacji z 2-ma tablicami rysunków (2).

W rozwoju bakteriologii praca ta ma duże znaczenie, gdyż autor jeden z pierwszych kładł podwaliny pod systematykę bakterii, wykazując, że i u tych tak prostej budowy istot dadzą się wykazać pewne morfologiczne cechy, odróżniające od siebie niektóre gatunki bakterii równie stanowczo, jak morfologiczne cechy odróżniają od siebie różne gatunki roślin wyższych. W szczególności cenne są badania Prażmowskiego nad bakteriami fermentacji masłowej, które on pierwszy odróżnił dokładnie od bakterii sianowej, wykazując zupełnie stanowcze różnice morfologiczne w sposobie kiełkowania ich zarodników. W wymienionej pracy znajdujemy również cenne badania nad jedną z bakterii fermentacji moczowej.

Pisząc „O tworzeniu się zarodników w bakteryj“ (Rozpr. i Spr. P. A. U. XVII, 1888, 227), Prażmowski broni swego prioritetu w sprawie odróżniania gatunków bakteryj.

„Zasada „*suum cuique*“ zdaje się być całkiem obcą dzisiejszym autorom niemieckim. Wszystkie podręczniki i drobniejsze prace bakteriologiczne, jakie zdarzyło mi się czytać w ciągu ostatnich lat kilku, przypisują wyłącznie Cohnowi i Kochowi zasługę udowodnienia, że istnieją różne gatunki bakteryj, a o moich pracach prawie zupełnie zamilczają. Tymczasem Cohn wygłosił wprawdzie pierwszy zdanie, że bakterie, dają się podobnie jak wyższe ustroje rozdzielić na osobne rodzaje i gatunki, ale nie był w stanie na poparcie swego twierdzenia prócz luźnych spostrzeżeń i dalekich analogii nic więcej przytoczyć; sam też nie uważał swoich gatunków za naturalne, ale za tymczasowe, bo oparte wyłącznie o własności fizyjologiczne; prace zaś Kocha z przed r. 1880 niczem zupełnie nie przyczyniły się do wyświecenia się kwestyi gatunków i rodzajów bakteryj.

Przytaczam to nie dla tego, abym chciał umniejszać zasługi Cohna lub Kocha, bo kto czytał moje prace, ten wie, iż oddałem pracom ich pełną sprawiedliwość, ale czynię to dla ostrzeżenia naszych bakteryjologów, którzy, nie zaglądając do źródeł, zbyt pochopnie powtarzają niezgodne z prawdą sądy na wiarę swych niemieckich przewodników.“

Wróciwszy z dyplomem doktorskim do Polski w jesieni r. 1880, Prażmowski wyruszył w podróż naukowo-rolniczą do Czech, Niższej Austrii i Galicji, badając stosunki produkcji roślinnej; po powrocie został asystentem przy katedrze botaniki rolniczej E. Godlewskiego w Dublanach. Pod jego kierunkiem wykończył cenną pracę „Historja rozwoju i morfologia prątka wąglikowego“ (*Bacillus Anthracis Cohn*) (2). Wyniki tej pracy referował na posiedzeniu Towarzystwa przyrodników im. Kopernika oraz we Lwowskim Towarzystwie Lekarskim; pragnął tę pracę rozszerzyć, lecz w lipcu 1882 r. został powołany na profesora Krajowej Średniej szkoły Rolniczej w Czernichowie, gdzie nie było odpowiedniej pracowni, wobec tego dał ją do druku do Rozpraw Akademii Umiejętności w tej formie, w jakiej wykonał ją w Dublanach. Dla stabilizacji Ministerstwo zażądało wykazania się świadectwem kwalifikacyjnym na nauczyciela średnich szkół rolniczych w Austrii. Wobec tego Prażmowski w r. 1885 poddał się temu egzaminowi przed komisją w Wiedniu i zdał z odznaczeniem.

Szkoła w Czernichowie utrzymywana z funduszów krajowych nie była wyposażona w odpowiednie pracownie; nie miała np. gazu, i tu Prażmowski, chcąc dalej twórczo pracować naukowo, musiał rozwijać pomysłowość i radzić sobie w trudnych warunkach. Kuchnia przy jego mieszkaniu zastępowała mu laboratorium. Pomimo trudności, tu zostały wykonane dwie cenne prace, które wsławiły jego imię w nauce.

Zająwszy się sprawą powstawania zarodników u bakterii, rozpatrzywszy krytycznie ówczesną literaturę i przeprowadziwszy szereg

własnych obserwacji, Prażmowski mógł stwierdzić w wyniku co następuje:

„Główną i zasadniczą cechą każdego aktu owocowania bakteryj jest, że plazma komórki wegetatywnej się zagęszcza i po otoczeniu się swoistą błoną wydaje komórkę trwałą, mogącą się stać w sprzyjających warunkach początkiem nowych generacyj i skuteczniej się opierającą szkodliwym wpływom zewnętrznym, niż w stanach, które ją poprzedziły". To endogeniczne tworzenie się zarodników u bakterii stało się trwałym dorobkiem w rozwoju bakteriologii.

Szczególnie ważnymi pracami Prażmowskiego są jego prace nad asymilacją wolnego azotu z powietrza. Zjawisko wzbogacania gleb w azot znane było wielu praktykom, lecz nie umiano tego wytłumaczyć. Liebig przypuszczał, że rośliny pobierają azot z atmosfery. Przeciwstawił się temu wybitny badacz, jakim był Boussingault. Przeprowadził on badania, hodując rośliny w glebie sterylizowanej w wyżarzonym piasku z dodatkiem popiołu z nawozu stajennego, a celem wykluczenia związków azotowych atmosfery trzymał rośliny pod kloszami, do których doprowadzano powietrze czyszczone kwasem siarkowym. Doświadczenia te udowodniły, że rośliny nie mogą korzystać z wolnego azotu atmosferycznego i to zarówno zboża, jak i rośliny strączkowe. Badania Sachsa i Mayera przy użyciu kultur wodnych potwierdziły te wyniki. Tymczasem rolnicy-praktycy twierdzili co innego. Tak np. niejaki Schulz z Lupitz z Brandenburgii odziedziczył majątek na ubogiej glegie, który przy normalnej gospodarce nie dawał dochodu. Tymczasem przy hodowli roślin strączkowych zwłaszcza łubinu i przy zastosowaniu nawozów potasowych po 15 latach plony wzrosły 3-krotnie i gleba wzbogaciła się w związki azotowe.

Zagadkę tę wyjaśniło epokowe odkrycie jakie dokonali Hellriegel i Willfarth (w r. 1888), wskazując, że rośliny groszkowe mogą korzystać z wolnego azotu powietrza. „Doświadczenia te", jak mówi E. Godlewski, „wykazały tylko pewne prawdopodobieństwo, ale bynajmniej nie pewność, że tę zdolność zawdzięczają one bakteriom zamieszkującym charakterystyczne brodawki na korzeniach. Bo Hellriegel udowodnił tylko, że rośliny groszkowe, wysiane w ziemię sterylizowaną, nie tworzą brodawek na swych korzeniach i nie asymilują wolnego azotu, że natomiast znajdujemy w nich obie te własności, jeżeli do sterylizowanej ziemi, w którą je zasiewamy, dodamy wyciągu wodnego ze świeżej ziemi, na której rośliny groszkowe rosły. Z tej równoległości między tworzeniem się brodawek a wiązaniem azotu z powietrza wolno było wnioskować o prawdopodobieństwie związku między tymi zjawiskami, ale nie o pewności tego związku, bo rezultat musiałby wypaść taki sam, choćby rośliny groszkowe zawdzięczały swą zdolność

wiązania wolnego azotu nie bakteriom brodawkowym, ale jakimś innym żyjącym w glebie; bo przez wyjałowienie ziemi zginęłyby wszystkie żyjące w niej bakterie, a więc i wywołujące tworzenie brodawek i te inne, które by niezależnie od tych uzdalniały rośliny do korzystania z azotu atmosferycznego. Otóż dopiero Prażmowskiemu przypada zasługa udowodnienia w sposób nie pozostawiający żadnych wątpliwości, że to właśnie owe bakterie brodawkowe uzdalniają rośliny groszkowe do wiązania wolnego azotu, a tym samym, że one też decydują o użyźniającym glebę działaniu roślin groszkowych".

Co się tyczy pochodzenia brodawek, to przed Hellrieglem i Prażmowskim panowały w literaturze różne sprzeczności. Persoon i Fries poczytywali je za szczególne formy grzybów z rodzaju *Sclerotium*, to samo twierdzi i Erickson. Bliższy prawdy był Woronin, który doszedł do przypuszczenia, że w komórkach brodawek znajdują się ciałka podobne do bakterii. Inni przypuszczali, że są to pączki podziemne o podstawie bulwiastej (Treviranus) lub przeobrażone korzonki boczne (De Vries), Kny przypuszczał, że przyczyną powstawania jest śluzowiec. Frank, który nie uznawał możliwości wiązania wolnego azotu z powietrza przez brodawki, uważał je za wytwór pasożytniczego grzybka, któremu dał nazwę *Rhizobium radicicola*. Chociaż Prażmowski i Beijerinck dowiedli niezbicie, że w brodawkach korzeniowych roślin strączkowych są bakterie (czy nazwiemy je *Bacillus* czy *Bacterium*), w nowych pracach z winy Begeya znów wypłynął niesłusznie *Rhizobium*, nazwa nadana przez Franka nie bakterii, lecz nieistniejącemu grzybkowi; nie można więc jej stosować do bakterii. Beijerinck pierwszy wyosobnił omawiane bakterie. Prażmowski uczynił to samo metodą podaną przez Beijerincka i zakażał czystymi kulturami rośliny strączkowe hodowane aseptycznie. Następnie prześledził ich przenikanie do korzenia przez włośniki, tworzenie się worka bakteryjnego, który wędruje w głąb od komórki do komórki i powoduje przyśpieszony podział komórek w 4—5 wewnętrznych warstwach kory. W miarę dzielenia się cała tkanka przybiera wybitne cechy tkanki twórczej, złożonej z komórek drobnych, cienkościennych, wypełnionych gęstą i ziarnistą treścią plazmatyczną. „Dalszy rozwój brodawki jak pisze Prażmowski, „polega na rozroście i stopniowym wykształceniu jej tkanek. Zanim jeszcze brodawka wydobędzie się na zewnątrz korzenia i zanim wiązki jej łykodrzewne się wykształcą, rozwija się tak zw. tkanka bakteroidowa. Komórki szybko powiększają swą objętość i bakterie dostają się do plazmy przez rozpuszczenie błon otaczających worki. Bakterie dostawszy się do plazmy komórek, zachowują początkowo swój kształt pierwotny pojedynczych pałeczek i prawdopodobnie rozmnażają się w niej jeszcze przez

pewien czas. W miarę jednak im dłużej w plazmie pozostają, osłabiają się w swej sile wegetatywnej, przybierają kształty gałęziste i zamieniają się w bakteroidy. Ostatecznie ulegają resorbcji przez plazmę. Nie wszystkie wszakże worki bakteryjne rozpuszczają się i treść swoją komórkom oddają. Znaczna część worków wypełnionych bakteriami pozostaje w komórkach w stanie nie naruszonym i utrzymuje się w nich przez całe życie brodawki. Zamknięte w tych workach bakterie zachowują stale swoje kształty normalne także i zdolność do dalszego rozwoju". Poznawszy dokładnie rozwój brodawek korzeniowych i ich związek z bakteriami, Prażmowski w serii kultur piaskowych, zakażonych czystymi kulturami bakterii brodawkowych z jak najdokładniejszym wyłączeniem wszelkich innych, uzyskał znaczne przybytki azotu w roślinach, tymczasem w kulturach bez zakażenia tego przybytku nie było. W ten sposób Prażmowski udowodnił ostatecznie, że obecność bakterii brodawkowych wystarcza do uzdolnienia roślin groszkowych do wiązania wolnego azotu.

Ta praca związała na zawsze imię Prażmowskiego z niezmiernie ważnym odkryciem w dziedzinie bakteriologii rolniczej. Ona głównie wraz z cyklem prac poprzednich utorowała mu drogę do zdobycia tytułu członka-korespondenta Pol. Ak. Um. w Krakowie (w r. 1893) i jest uwieńczeniem jego pierwszego okresu pracy naukowej, po którym następuje dłuższa przerwa, gdyż autor skierowuje swą energię i talent organizacyjny na inny teren — działalności społecznej.

W Czernichowie Prażmowski zawarł bliższą znajomość z kolegą z tejże uczelni prof. dr Franciszkiem Stefczykiem. Znajomość przerodziła się niebawem w przyjaźń. Na obu przyjaciół duże wrażenie wywarła książka Stanisława Szczepanowskiego pt. „Nędza Galicji". Zastanawiając się nad sposobami, jakimi możnaby przy ówczesnym ustroju wyrwać galicyjskiego chłopa z tej nędzy, zwrócili uwagę na rozwój spółdzielczości przez zakładanie Kółek Rolniczych i kas spółdzielczych typu Reiffeisena. Pierwsza taka kasa powstała za ich inicjatywą w Czernichowie, a potem Galicja pokryła się całą siecią takich spółdzielni. Dla sprawniejszego działania Kółek Rolniczych postanowiono stworzyć Związek Handlowy Kółek Rolniczych jako centralną organizację mającą na celu zaopatrywanie sklepów tej organizacji. Pierwsze udziały Związku Handlowego Kółek Rolniczych zadeklarowali profesorowie Uniwersytetu Jagiellońskiego: Napoleon Cybulski, Władysław Lubomęski, Stefan Jentys i Stefan Surzycki. Wybrany zarząd powierzył kierownictwo tej instytucji Prażmowskiemu, który w r. 1892 przeniósł się do Krakowa, gdyż lekarze nakazali mu opuścić Czernichów, gdzie się nabawił malarii w ciękiej formie, która wywołała chorobę nerek. Odtąd

przez lat 18 poświęcał się całkowicie nowej pracy na polu spółdzielczości rolniczej. Instytucja ta zaczęła pracę z kapitałem 3000 koron, wpłaconych przez osoby prywatne. Gdy ta nowa placówka rozwinęła się i okrzepła, wówczas rozpoczęła się walka z konserwatystami o wpływy. W tej walce Prażmowski jako postępowiec musiał ustąpić, co uczynił w r. 1910, kiedy majątek instytucji wynosił już 2 miliony koron.

Odtąd Prażmowski wrócił znów od pracy dydaktycznej i naukowej. W tym czasie powstało w Krakowie Studium Rolnicze i Prażmowski od r. 1911 zaczął wykładać tam botanikę rolniczą w zastępstwie chorego prof. Janczewskiego, a w r. 1916 jako habilitowany docent objął wykłady mikrobiologii. W r. 1919 został profesorem zwyczajnym.

Jednocześnie z młodzieńczym zapałem powrócił do pracy naukowej. W tym czasie zagadnienie interesujące Prażmowskiego — asymilacja azotu z powietrza przybrało nową postać.

Około roku 1895 Winogradzki wykazał istnienie w glebie drobnoustrojów wiążących wolny azot z powietrza. Na pożywce bezazotowej z cukrem wyhodował bezwzględnego beztlenowca *Clostridium Pasteurianum,* który wywoływał fermentację kwasu masłowego. Następnie Beijerinck wyizolował z gleby bakterię, którą nazwał *Azotobacter chroococcum.* Organizm ten w surowych kulturach wydatnie przyswajał azot. Jednakże w miarę oczyszczania kultur organizm tracił zdolność wiązania azotu, a także zdolność wzrostu. Sprawa ta wyjaśniła się dopiero w pracowni prof. E. Godlewskiego, dzięki pracom małżonków S. i H. Krzemieniewskich, którzy stwierdzili, że dla rozwoju Azotobaktera nieodzowna jest próchnica. Prace Krzemieniewskich były pobudką dla Prażmowskiego do podjęcia nowych badań nad Azotobakterem w celu wyjaśnienia roli próchnicy w jego rozwoju. W wydawnictwach P. Akademii Umiejętności, (Rozprawach i Biuletynie) w r. 1911 i 1912 ogłosił on dwie cenne prace z tej dziedziny. W pierwszej zajął się historią rozwoju Azotobaktera, prześledził jak nikt przedtem, pełny cykl rozwoju tego organizmu, zbadał różne stadia tego rozwoju, który charakteryzuje się wielką rozmaitością form, zwrócił specjalną uwagę na tworzenie się i kiełkowanie zarodników oraz na budowę i tworzenie się jądra. W drugiej pracy poświęconej fizjologii i biologii Azotobaktera Prażmowski starał się wyświetlić rolę próchnicy w życiu tego organizmu. Przypuszczając działanie koloidów, postarał się zastąpić próchnicę innymi ciałami, ale zawsze tylko koloidalnymi, przy czym najkorzystniejsze wyniki otrzymał wtedy, gdy kombinował dwa ciała koloidalne: jedno organicznej, drugie mineralnej natury. Wiadomo nam, że w próchnicy naturalnej wyciągniętej z ziemi znajdują się zawsze ciała mineralne natury koloidalnej, mianowicie związki

żelaza, wystarczające do najkorzystniejszego działania. Nie każda jednak próchnica działa jednakowo jak się o tym już przekonał Krzemieniewski w swoich badaniach: próchnica z mineralnej ziemi ornej działa daleko lepiej, niż próchnica z torfu, a próchnica sztucznie przyrządzona z cukru nie działa prawie wcale. Nie ma prawie wątpliwości, że te różnice są w związku z obfitszym lub skąpszym znajdowaniem się w próchnicy mineralnej ciał koloidalnych. Do takiego wniosku uprawnia spostrzeżenie Prażmowskiego, że nawet próchnica sztucznie sporządzona z cukru może stać się czynną, jeżeli do niej dodamy w odpowiedniej ilości i formie koloidalnego wodorotlenku żelaza.

Dziś dowiedziono, że w związkach żelaza znajdują się i rzadkie metale jak molibden, które tutaj grają rolę decydującą. W r. 1913 wyszła w wydawnictwach P. A. U. nowa praca „O jądrach komórkowych bakteryj". Są to bardzo skrupulatne badania opatrzone licznymi rysunkami na specjalnej tablicy.

Wybuch pierwszej wojny światowej wytrącił znów Prażmowskiego z toku badań naukowych; w dodatku pod koniec tego okresu zaczęła w nim nurtować dawniejsza choroba, która doprowadziła do śmierci 20.VIII.1920 r. W r. 1919 zdążył on jeszcze ogłosić króciutkie sprawozdanie z ostatnich badań swego życia pt. „Fragmenty morfologiczne i fizjologiczne z życia Azotobaktera i bakterii kwaśnienia mleka".

Historia bakteriologii rolniczej w Polsce zachowa we wdzięcznej pamięci imię tego pierwszego pioniera w tej dziedzinie, cenionego odkrywcy prawd nowych, zwłaszcza w zagadnieniu wiązania wolnego azotu przez rośliny.

SPIS PRAC PROF. DR ADAMA PRAŻMOWSKIEGO

LISTE DES TRAVAUX DU PROF. DR ADAM PRAŻMOWSKI

1. Zur Entwickelungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bakterien-Arten. Vorläufige Mitteilung. — Bot. Zeitung XXXVII Nr 26. 1879. str. 409—423.

1. A. Untersuchungen über Entwickelungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bakterien-Arten. Leipzig. 1880. 8°. 48 p. Mit. 2 Kupfertaf. (Ref. Poulsen. — Bot. Zeit. XXXVIII. 1880 Nr. 30. str. 523—525).

2. Historia rozwoju i morfologia prątka wąglikowego (*Bacillus Anthracis* Cohn.) — Rozpr. i Spraw. Ak. Um. T. XII. Kraków 1884, s. 87—113 z 1 tabl.

3. Über den genetischen Zusammenhang der Milzbrand-und Heubakterien. — Biolog. Centralbl. Bd. IV, 1885, p. 393.

4. O tworzeniu się zarodników u bakteryj. — Rozpr. Ak. Um. XVIII. Kraków 1888, s. 225—259 z 1 tabl.

5. Die Wurzelknöllchen der Erbse. I. Ätiologie und Entwickelungsgeschichte der Knöllchen. — Die Landwirtsch. Versuchs-Station Bd. XXXVII. Berlin 1890, s. 161—238. Mit 2 lith. Tafeln.

6. Die Wurzelknöllchen der Erbse. Die biologische Bedeutung der Wurzelknöllchen. — Die Landw. Versuchs.-Stations. Bd. XXXVIII. Berlin 1891, s. 5—62. Mit 1 lith. Tafel.

7. Brodawki korzeniowe grochu. — Rozpr. Ak. Um. w Krakowie, Wydz. Mat.-Przyr. Ser. II. T. 1 (XXI) 1891, s. 25—134. z. 2-ma tabl.

8. Historia rozwoju i morfologia Azotobaktera (*Azotobacter chroococcum* Beijer.) — Rozprawy Wydz. Mat.-Przyr. Ak. Um. w Krakowie. s. III. T. 11 B (51 B) 1911, s. 513—525. — Sprawozd. A. U. T. XVI. 1911, nr 10, str. 11—12.

8. A. Entwickelunsgeschichte und Morphologie des *Azotobacter chroococcum* Beijer. Vorläufige Mitteil.-Bull. Int. Ac. Sc. 1911 B. s. 739—741.

8. B. Die Entwicklungsgeschichte, Morphologie und Cytologie des *Azotobacter chrococcum* Beijer. Vorläufige Mitteilung.-Centralblat f. Bakteriologie, Paras. u. Infekt. II. Abt. Bd. 33. Jena 1912. S. 292—305.

9. Studia nad Azotobakterem, I. Morfologia i cytologia. *Azotobacter-Studien*. I. Morphologie und Cytologie. — Bull. Int. Acad. Cracovie. 1912, nr 3 B. s. 87—194. z 3-ma tabl. Sprawozd. A. U. T. XVII. 1912 nr 3, str. 20—21.

10. Studia nad Azotobakterem Cz. II. Fizjologia i biologia. *Azotobacter-Studien*. II Teil. Physiologie und Biologie. — Bull. Int. Acad. Sc. Cracovie 1912 Nr 7 B. S. 855—950.

11. O jądrach komórkowych bakteryj. — Die Zellkerne der Bakterien. Bull. Intern. Ac. Sc. Cracovie. 1913. Nr 4 B. S. 105—151. z 1 tabl. Sprawozd. T. XVIII, nr 4. 1913, s. 21.

12. Fragmenty morfologiczne i fizjologiczne z życia azotobaktera i bakterji kwaśnienia mleka. — Sprawozd. Ak. U. w Krakowie. T. XXIV. r. 1919, str. 11—12.

13. Podniesienie produkcji zbóż. — Gazeta Rolnicza. Warszawa 1885. Nr 8—20.

14. O podniesienie krajowej produkcji nasion. — Tygodnik Rolniczy. Kraków, 1897.

RÉSUMÉ

ADAM PRAŻMOWSKI

(1853 — 1920)

(100-me anniversaire de naissance)

Adam Prażmowski, pionnier de bacteriologie agricole en Pologne, naquit le 25.XI.1853 en ancienne Galicie dans la propriété de Siedliska (distr. Jasło). Agé de 10 ans il perdit son père pendant l'insurrection polonaise de 1863. Il a fait ses études secondaires à Przemyśl et les études universitaires a Leipzig, étudiant specialement la botanique sous la direction du professeur Auguste Schenk et du professeur adjoint Christian Luersen. C'est à cette université qu'l a été promu docteur es sciences d'après sa thèse sur le développment et l'action fermentative des quelques bactéries. Dans ce travail il a demontré que les bacteries possédent des propriétés morphologiques qu'on peut systématiser et a donné de précieuses explications sur les bactéries de la fermentation butyrique et urinaire. En 1880 il est retourné en Pologne et est devenu assistant du prof. E. Godlewski (sen) à l'Ecole Superieure d'Agriculture à la chaire de chimie agricole à Dublany. Là il a écrit un travail de recherche sur l'histoire du développement de *Bacillus Anthracis*. En 1882 il fut nommé professeur a l'Ecole Secondaire Agricole à Czernichow. Là-bas il a écrit deux travaux précieux: 1) dans le premier il a prouvé l'origine endogénique des spores des bactéries, 2) dans le second il a prouvé par ses recherches experimentales l'action des bactéries dans les nodosités de Papilionacées au procés d'assimilation d'azote libre de l'air.

Il a isolé les cultures pures de ces bactéries et il était le premier à intoxiquer les racines des Papilionacées par les cultures pures de ces bactéries. Il a examiné le procés du développement des nodosités des racines et après dans les cultures des plantes stérilisées intoxiquées par des cultures pures des bactéries il a démontré le procés de l'assimilation d'azote atmosphérique.

En 1892 il a abandonné les occupations didactiques et scientifiques et travaillait dans le domaine du coopératisme agricole. Il est devenu directeur de l'Association Commerciale des Cercles Agricoles en Galicie où il a développé une action fructuesse en augmentant le capital de cette Association de 3000 couronnes autrichiennes jusqu' à 2000000.

A cause de la lutte du parti conservateur au sein de cette Association lui, qui était progressiste, était forcé de quitter son poste en 1910.

C'est alors qu'il est revenu a l'activité didactique et scientifique. Depuis 1911 il professait la microbiologe et la chimie agricole en qualité

de chargé de cours a la Faculté Agronomique de l'Université de Cracovie; en 1919 il fut nommé professeur ordinaire. En 1893 il fut élu membre-correspondant de l'Académie Polonaise des Sciences et des Lettres de Cracovie.

En poursuivant son activité scientifique Prażmowski dirigea son attention sur l'organisme assimilant l'azote de l'air *Azotobacter chroococcum* Beijer (en 1912) et il donna deux travaux précieux concernant la structure et l'evolution de cet organisme, anisi que son action en fonction du caractère de l'humus que renferme la glèbe. En 1913 il publia son travail sur les noyaux cellulaires des bactéries.

La première guerre mondiale interrompit ses travaux scientifiques. Il mourut en 1920 20.VIII par suite d'une longue maladie.

LITERATURA

1. Wiadomości od syna inż. Henryka Prażmowskiego.
2. J. Fierich jun 1934. Studium Rolnicze (1890—1923). Wydział Rolniczy Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków, str. 51, 59, 73, 125 i 149.
3. E. Godlewski sen. 1918. w wyd. „Polska w kulturze powszechnej" pod red. F. Konecznego. Cz. II. Szczegółowa. Kraków, str. 464—468.
4. B. Hryniewiecki 1933. Zarys historii botaniki w Polsce. Précis de l'histoire de botanique en Pologne. Warszawa, str. 24. z portr. nr 37.
5. B. Hryniewiecki 1948. Rozwój botaniki w Polsce. — P. A. U. Kraków str. 20 i 24.
6. Katalog wydawnictw Polskiej Akademii Umiejętności (1875—1947) T. II. Wydz. Mat.-Przyr. i Lek. Kraków. 1948. str. 57, 58, 59, 144, 146, 147, 168.
7. F. Koneczny 1921. Polskie Logos i Ethos. Roztrząsania o znaczeniu i celu Polski. T. I. Kraków, str. 97—99.
8. M. Korczewski 1928. Rozwój fizjologii roślin w Polsce. — Kosmos. Pol. Tow. Prz. im. Kopernika. Tom jubileuszowy (1875—1925). Kraków, str. 34 i 38.
9. Z. Maślankiewiczowa. Biologowie polscy. — Biblioteka Biologiczna, zesz. 6. Książnica-Atlas. Lwów — Warszawa str. 39.
10. B. Niklewski 1933. Fizjologia roślin. (Przemiana materii. Poznań, str. 213—222, 306, 326.

UWAGI DLA AUTORÓW

Redakcja przyjmuje tylko pierwsze maszynopisy (a nie kopie). Objętość nadesłanych prac nie powinna w zasadzie przekraczać 1 arkusza druku; umieszczanie większych prac wymaga poprzedniego omówienia z redaktorem. Materiał ilustracyjny w postaci rysunków w tekście lub tablic umieszczanych poza tekstem należy ograniczać do niezbędnego minimum. Rysunki muszą być dokładnie oznaczone, lecz nie numerowane na samej ilustracji. Poszczególne rysunki w tablicach winny być oznaczane raczej literami niż cyframi. Podpisy do rysunków i tablic winny być napisane na maszynie oddzielnie, gdyż gdzie indziej sporządzane są klisze a gdzie indziej składane są objaśnienia do nich. Materiał tabelaryczny nie może zajmować więcej niż 1/4 całego tekstu.

Prace przyjmowane są w języku polskim, angielskim, niemieckim, francuskim i rosyjskim z tym, iż prace w języku polskim muszą posiadać tytuł obcojęzyczny oraz streszczenie i ewentualnie objaśnienia rysunków w tym samym języku. W każdym maszynopisie winno być umieszczone na końcu streszczenie ważniejszych wyników pracy. Wszystkie cytaty z literatury w tekście winny zawierać nazwisko autora oraz pierwsze litery imion wraz z datą publikacji. Spis literatury cytowanej w tekście winien być umieszczony na końcu pracy pt. „Cytowana Literatura", w którym umieszczeni są autorowie alfabetycznie, a prace danego autora chronologicznie. Po nazwisku i pierwszych literach imion autora winna znajdować się data publikacji, następnie tytuł (który może być opuszczony), dalej skrót nazwy czasopisma, według reguł przyjętych w „World list of scientific periodicals" Oxford University Press 1925", następnie należy podać numer tomu i pierwszą i ostatnią liczbę stronic, oznaczoną literami arabskimi. W wypadku wydawnictwa książkowego a nie periodycznego, należy podać liczbę stronic, miejsce i datę publikacji oraz nazwisko wydawcy. Np.:

B r i d g e s C. B., 1938. A revised map of the salivary gland X chromosome. Journ. Hered. 29: 11—13.

H o b g e n L., 1933. Nature and Nurture. 144. pp. New York W. W. Norton and Co Inc.

Odnośniki w tekście powinny być w miarę możliwości unikane (zwykle mogą być umieszczane w tekście w nawiasach w miejscu do którego się odnoszą). O ile są konieczne, powinny być oznaczane gwiazdkami, krzyżykami itp., aby nie myliły się z cyframi w tablicach.

Korekty w ilości dwóch będą wysyłane autorom: w tym celu należy wraz z maszynopisem podać dokładny adres i podawać następnie ewentualne zmiany adresu. Korekty muszą być zwracane szybko, bez większych zmian w tekście. Acta Soc. Bot. Pol. dają autorom 100 bezpłatnych odbitek bez okładek, koszt dalszych odbitek ponoszą autorowie według rzeczywistych kosztów. Ilość żądanych odbitek należy podać przy drugiej korekcie. Rękopisy należy przesyłać do redaktorów: prof. K. Bassalika (Warszawa, Krakowskie Przedmieście 26/28) lub doc. W. Gajewskiego (Warszawa, al. Ujazdowskie 4), wszelką zaś korespondencję w sprawach wydawniczych do Redakcji (Warszawa, al. Ujazdowskie 4).

Adres Redakcji: Warszawa, Al. Ujazdowskie 4.
Adresse de la Rédaction: Varsovie (Pologne), Al. Ujazdowskie 4.

Nakład 1400 egz. + 100 nadb. Papier dziełowy ilustracyjny kl. V g 70 format B1.
Objętość 15 ark. Zam. 216 z dnia 5.X.53, druk ukończ. w lutym 1954 5-B-11796

Stołeczne Zakłady Graficzne, Drukarnia Naukowa, Warszawa, ul. Śniadeckich 8.